



THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par Institut National Polytechnique de Toulouse

Spécialité : Sciences et Génie des Matériaux

Présentée et soutenue par **Jitti MUNGKALASIRI**

Le 05 février 2009

ELABORATION PAR DLI-MOCVD DE DÉPÔTS NANOCOMPOSITES TiO_2 -M (M = Ag, Cu) ET PROPRIÉTÉS ANTIBACTÉRIENNES DE CES SURFACES SOLIDES.

JURY

Jean	FRENEY	Professeur, Lyon	Rapporteur
Michel	ANDRIEUX	Maître de Conférence, Orsay	Rapporteur
Patrice	RAYNAUD	Chargé de Recherche CNRS, Toulouse	Examineur
Patrick	CHOQUET	Directeur de Recherche	Examineur
		Centre de Recherche Gabriel Lippmann, LUXEMBOURG	
François	RENAUD	Professeur, Lyon	Examineur
Robert	HINAULT	Ingénieur Gerflor, Tarare	Examineur
Laurent	BEDEL	Ingénieur CEA, Grenoble	Co-Encadrant
Francis	MAURY	Directeur de Recherche CNRS, Toulouse	Directeur de thèse

Ecole doctorale : Sciences de la Matière

Unité de recherche : CIRIMAT et LITEN/DTNM/LTS (CEA Grenoble)

REMERCIEMENT

Tout d'abord, je souhaite exprimer ma reconnaissance et mes remerciements aux personnes qui m'ont soutenu et aidé durant les années consacrées à la réalisation de ce travail aux Centre Commissariat à l'Énergie Atomique (CEA Grenoble), Centre Interuniversitaire de Recherche et d'Ingénierie des Matériaux (CIRIMAT) et Nosoco.Tech.

Je tiens à remercier les rapporteurs de mon manuscrit, Jean FRENEY du Centre de Biologie Est de Lyon et Michel ANDRIEUX du Laboratoire d'Etude des Matériaux Hors Equilibre de l'institut de chimie moléculaire et des matériaux d'Orsay. Je leur suis reconnaissant de leurs remarques avisées et de l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail.

Je remercie François RENAUD, professeur du laboratoire de bactériologie de la faculté de médecine de Lyon d'avoir accepté de présider le jury lors de ma soutenance et de m'avoir prodigué de nombreux conseils sur la partie biologique de la thèse.

J'adresse également mes plus vifs remerciements à Patrice RAYNAUD, chargé de recherche du Laboratoire Plasma et Conversion d'Energie, à Patrick CHOQUET, directeur de recherche du centre de recherche public-Gabriel Lippman, Luxembourg, et à Robert HINAULT, ingénieur de recherche de la société Gerflor pour leur participation au jury de thèse et leur intérêt manifeste pour ces travaux.

Un grand merci à Laurent BEDEL, Ingénieur de recherche du CEA de Grenoble, pour avoir encadré et participé au jury de thèse, mais surtout pour son dynamisme, sa bonne humeur, ses conseils toujours pertinents et son aide lors de la rédaction de ce manuscrit. Egalement pour ses conseils et m'avoir souvent fait partager sa vaste expérience.

Merci également à Guillaume RAVEL, directeur du Laboratoire des Technologies des Surfaces au CEA, pour l'accueil qui m'a été réservé dans son laboratoire.

Enfin, ma reconnaissance va également à mon directeur de thèse, Francis MAURY, directeur du CIRIMAT, pour son aide au long de ces trois années de travail commun. Ses conseils avertis dans bien des domaines m'ont permis de progresser, et d'élargir mon champ de vision du travail de chercheur.

Pour leur compétence et leur grande gentillesse, je tiens à remercier tous ceux qui m'ont donné accès aux techniques d'analyse sans lesquelles ce travail se réduirait à bien peu de choses : Claude CHABROL pour la DRX, Fabrice EMIEUX pour le MEB FEG et l'EDS, Marie-Christine LAFONT pour le MET.

Pour leur disponibilité et leur diligence, j'exprimerai ici aussi ma gratitude aux techniciens sans qui l'avancement des travaux ne serait pas aussi aisé : Fabrice EMIEUX,

Chritstelle ANGLADE et Michel JOUVE, notre technicien d'élite, pour le support technique du procédé du dépôt. Jeanne DORE et Aurélia DICARA, mes chères amies lyonnaises, pour le conseil pratique des tests biologiques.

Pour les discussions scientifiques, son amitié et ses glamours, merci à Christophe SECOUARD, Caroline CHOUQUET, Silamata DIOMANDE. La liste pourrait se perpétuer longtemps encore, mais je remercierai, Dan Duminica, Christos Sarantopoulos, Agnès ma chère amie polonaise, Benoît, Seb, Titi, Vincent...

Je n'oublie pas ici tous ceux qui ont constitué ma vie hors du laboratoire ces trois années durant, mes parents, ma famille, Minuit et tous mes amis thaïs. Merci à vous pour tout ce que vous avez su m'apporter, aux bons moments, aux aventures vécues ensemble...

Merci...

INTRODUCTION GENERALE	9
Chapitre I : ETAT DE L'ART.....	11
1. Infection bactérienne : bactéries étudiées	13
1.1. <i>Escherichia coli</i>	13
1.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	14
2. Produits antimicrobiens commerciaux.....	15
2.1. <i>Produits Biocides</i>	16
2.2. <i>Produits utilisant le triclosan</i>	16
2.3. <i>Ammoniums quaternaires</i>	17
2.4. <i>Produits utilisant de l'argent</i>	17
3. Composés intégrés dans des matériaux ou des surfaces	18
3.1. <i>Produits organiques</i>	18
3.1.1. <i>Furanone</i>	18
3.1.2. <i>Sels d'ammoniums quaternaires</i>	20
3.2. <i>Effet de l'énergie de surface</i>	21
3.3. <i>Dioxyde de titane</i>	22
3.3.1. <i>Poudre de TiO₂ en suspension dans un liquide</i>	25
3.3.2. <i>Films de TiO₂ supportés</i>	27
3.3.3. <i>Dopage du TiO₂</i>	30
3.4. <i>Eléments métalliques</i>	31
3.4.1. <i>Argent</i>	31
3.4.1.1. <i>Mécanisme d'action de l'argent</i>	31
3.4.1.2. <i>Résistance des bactéries</i>	32
3.4.1.3. <i>Activité antibactérienne de l'argent sous forme métallique</i>	32
3.4.1.4. <i>Dépôt composite TiO₂-Ag</i>	35
3.4.2. <i>Cuivre</i>	37
3.4.2.1. <i>Mécanisme d'action du cuivre</i>	38
3.4.2.2. <i>Résistance des bactéries au cuivre</i>	38
3.4.2.3. <i>Activité antibactérienne du cuivre sous forme métallique</i>	39
4. Biofilms.....	41
4.1. <i>Qu'est ce qu'un biofilm ?</i>	41
4.2. <i>Cycle de vie d'un biofilm</i>	43
4.3. <i>Facteur de croissance</i>	45
4.3.1. <i>Nature de la surface</i>	45
4.3.2. <i>Rugosité de surface</i>	46
4.3.3. <i>Eléments nutritifs</i>	47
4.3.4. <i>Vitesse d'écoulement</i>	48
4.4. <i>Mécanisme de protection d'un biofilm</i>	49
4.5. <i>Modes de contaminations</i>	50
4.6. <i>Conclusion sur les biofilms</i>	50
5. Conclusion.....	51

Chapitre II : TECHNIQUES ET METHODES EXPERIMENTALES	53
1. Elaboration des dépôts.....	55
1.1. Préparation des substrats	55
1.2. Précurseurs et gaz employés	55
1.3. Procédé d'élaboration des dépôts : DLI-MOCVD.....	58
1.4. Paramètres de dépôt	61
2. Caractérisation physico-chimique et structurale des dépôts.....	62
2.1. Diffraction des rayons X.....	62
2.2. Microscope électronique à balayage	63
2.3. Energy dispersive X-ray spectroscopy	64
2.4. Microscopie électronique en transmission.....	64
2.5. Spectroscopie des photoelectrons induits par RX.....	64
2.6. Spectrométrie de masse à ionisation secondaire	65
2.7. Propriétés optiques : spectrophotométrie UV/Vis/NIR	66
2.8. Angle de contact.....	67
3. Activité antibactérienne des dépôts	68
3.1. Test du film contact : norme japonaise JIS Z 2801	68
3.1.1. Principe	68
3.1.2. Protocole	68
3.1.3. Détermination de l'activité antibactérienne.....	70
Activité « normalisée ».....	71
3.2. Test dépôt antibactérien de Weight, Haldar and Klivanov : aérosol de bactéries	71
3.2.1. Principe	71
3.2.2. Protocole	72
3.2.3. Interprétation	72
3.3. Test du brumisateur	73
3.3.1. Principe	73
3.3.2. Protocole	73
3.3.3. Interprétation	74
3.4. Test de diffusion des principes actifs.....	74
3.4.1. Principe	75
3.4.2. Protocole	75
3.4.3. Détermination la largeur de la zone d'inhibition et interprétation.....	75
4. Propriétés photocatalytiques	76
4.1. Principe.....	76
4.2. Protocole.....	76
4.3. Interprétation	77
Chapitre III : ELABORATION ET CARACTERISATION DES DEPOTS COMPOSITES TiO₂-Ag ET COMPORTEMENT ANTIBACTERIEN	79
1. Paramètres d'élaboration	81
1.1. Paramètres d'injection des solutions de précurseurs	81
1.2. Fraction molaire des précurseurs.....	82

2. Caractérisations physico-chimiques, structurales et antibactérienne des dépôts	
TiO₂-Ag	84
2.1. Cinétique de croissance	84
2.2. Morphologie des dépôts	85
2.3. Structure cristalline des dépôts	86
2.4. Teneur en argent des films (analyses XPS et SIMS)	89
2.5. Propriétés physiques, principalement optiques des dépôts	90
3. Activité antibactérienne et photocatalytique	92
3.1. Activité antibactérienne	92
3.2. Activité photocatalytique	93
3.3. Double fonctionnalité : photocatalytique et antibactérienne	95
4. Conclusion sur les dépôts nano composites TiO₂-Ag	96
Chapitre IV : ELABORATION ET CARACTERISATION DE REVETEMENTS	
NANOCOMPOSITES TiO₂-Cu ET COMPORTEMENT ANTIBACTERIEN	99
1. Paramètres d'élaboration	101
1.1. Précurseurs	101
1.2. Fraction molaire des précurseurs	102
2. Caractérisations des films minces déposés à 400 °C	104
2.1. Cinétique de croissance	104
2.2. Morphologie des dépôts	105
2.3. Analyse de la répartition des particules de cuivre dans les films (MET et SIMS)	106
2.4. Structure cristalline des dépôts	109
2.4.1. Structure des particules de cuivre	110
2.4.2. Structure du dioxyde de titane	111
2.5. Teneur en cuivre des films composites TiO ₂ -Cu	115
2.6. Elaboration de films TiO ₂ -Cu à partir d'une seule solution (TTIP et Cu(TMHD) ₂) dans du xylène	118
3. Influence de la température de dépôt	119
4. Activité antibactérienne	122
4.1. Influence de la fraction molaire du précurseur de cuivre	122
4.2. Effet de l'épaisseur	123
5. Tests antibactériens non standards	125
5.1. Cinétique de l'activité antibactérienne	125
5.2. Test de diffusion	126
5.3. Tests WHK et du brumisateur	127
5.3.1. Test WHK	127
5.3.2. Test du brumisateur	129

5.4. Test de vieillissement	131
6. Conclusion sur les dépôts TiO₂-Cu	134
CONCLUSION GENERALE - PERSPECTIVES.....	137
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	141
ANNEXE	155
GLOSSAIRE.....	167

INTRODUCTION GENERALE

Quatre vingt dix neuf pourcents des bactéries présentes dans notre environnement quotidien vivent sur des surfaces solides sous forme de microcolonies ou de biofilms. Les autres sont dans une phase de transfert entre deux surfaces et sont appelées bactéries planctoniques. Les biofilms sont donc potentiellement des sources de développement et de prolifération des bactéries. Empêcher leur croissance sur les surfaces solides est ainsi une voie efficace de lutte contre la contamination microbienne. Heureusement, seule une minorité des bactéries est pathogène et dangereuse pour les êtres humains, et plus particulièrement pour les immunodéprimés. En conséquence, des traitements de surfaces visant à les rendre antimicrobiennes doivent être envisagés dans des secteurs sensibles pour la société, tels que le milieu hospitalier, l'industrie alimentaire et les systèmes de traitement de fluides générateurs d'aérosols.

Au-delà des coûts induits par ces contaminations, ce problème de santé publique justifie pleinement l'intérêt croissant pour le développement de surfaces bactéricides. Il est donc important d'essayer de limiter les risques provenant de surfaces dans des endroits stratégiques.

Notre travail s'inscrit dans ce contexte en proposant des revêtements antibactériens efficaces, durables et surtout industrialisables, pouvant être déposés sur divers supports. Ce mémoire rapporte le développement de films minces à partir d'un procédé original de dépôt chimique en phase vapeur : DLI-MOCVD (« Direct Liquid Injection Metal Organic Chemical Vapour Deposition »). Ce procédé opère à basse température et sous pression réduite contrôlée et peut donc être appliqué au traitement surface de divers substrats, plans ou de formes complexes.

Plus précisément, l'étude porte sur deux types de revêtements antibactériens constitués de nanoparticules métalliques dispersées dans une matrice d'oxyde. Cette matrice est le polymorphe anatase de l'oxyde de titane (TiO_2) et les deux agents antibactériens choisis sont l'argent (Ag) et le cuivre (Cu). Ces deux métaux de transition sont déjà connus pour leur efficacité antibactérienne. L'association avec l'oxyde fonctionnel TiO_2 vise à tirer profit des propriétés photocatalytiques de ce semiconducteur à grande largeur de bande interdite pour obtenir des revêtements multifonctionnels.

Les propriétés antibactériennes ont été optimisées à partir de corrélations avec caractéristiques physico-chimiques et structurales des films, elles-mêmes contrôlables à partir des paramètres d'élaboration du procédé DLI-MOCVD. Parmi nos objectifs, au-delà de la qualité de l'uniformité des dépôts, que ce soit en épaisseur, microstructure et composition, nous avons tenté de minimiser la teneur en élément antibactérien.

Cette introduction générale est volontairement relativement succincte car d'autres éléments du contexte, des fondamentaux et les objectifs sont plus abondamment décrits dans le premier chapitre. Ainsi, ce mémoire est divisé en quatre chapitres principaux complétés en annexe de quelques notions de microbiologie avec une description du métabolisme d'une bactérie. En effet, s'agissant d'une thèse en science des matériaux, son aspect pluridisciplinaire est particulièrement fort et il nous a paru utile de préciser quelques fondamentaux de microbiologie, susceptibles de faciliter la compréhension du mémoire.

La première partie du **chapitre I** présente les bactéries les plus couramment étudiées car à l'origine de l'essentiel des infections bactériennes. Sont ensuite décrits les moyens de les combattre en utilisant des produits spécifiques (antibiotiques, biocides). Nous focalisons notre état de l'art plus particulièrement sur les agents incorporables à des surfaces solides sous forme de revêtements comme l'argent et le cuivre. La dernière partie du chapitre décrit la constitution et les facteurs qui influent sur le développement d'un biofilm.

Le **second chapitre** est consacré aux techniques et méthodes expérimentales qui ont été utilisées tout au long de ce travail. Tout d'abord le procédé de dépôt sera décrit avant de présenter les différentes techniques de caractérisations des couches minces et des surfaces ainsi que les tests antibactériens, dont certains sont originaux et ont été spécifiquement développés pour cette étude.

Le **troisième et le quatrième chapitre** rassemblent l'essentiel des résultats. Ils traitent respectivement des propriétés physico-chimiques, structurales et antibactériennes des dépôts nanocomposites de type $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ et $\text{TiO}_2\text{-Cu}$. L'influence de la fraction molaire du précurseur contenant l'élément antibactérien a particulièrement été étudiée car elle permet d'ajuster la teneur et la distribution en particules métalliques. Les propriétés antibactériennes y sont détaillées et commentées.

La **conclusion générale** de ce travail est ensuite présentée avec des perspectives pour de futurs développements issus des résultats de ce travail, tant d'un point de vue académique qu'applicatif.

Chapitre I : ETAT DE L'ART

1. Infection bactérienne : bactéries étudiées	13
1.1. <i>Escherichia coli</i>	13
1.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	14
2. Produits antimicrobiens commerciaux.....	15
2.1. <i>Produits Biocides</i>	16
2.2. <i>Produits utilisant le triclosan</i>	16
2.3. <i>Ammoniums quaternaires</i>	17
2.4. <i>Produits utilisant de l'argent</i>	17
3. Composés intégrés dans des matériaux ou des surfaces	18
3.1. <i>Produits organiques</i>	18
3.1.1. Furanone.....	18
3.1.2. Sels d'ammoniums quaternaires.....	20
3.2. <i>Effet de l'énergie de surface</i>	21
3.3. <i>Dioxyde de titane</i>	22
3.3.1. Poudre de TiO ₂ en suspension dans un liquide.....	25
3.3.2. Films de TiO ₂ supportés.....	27
3.3.3. Dopage du TiO ₂	30
3.4. <i>Eléments métalliques</i>	31
3.4.1. Argent.....	31
3.4.1.1. Mécanisme d'action de l'argent.....	31
3.4.1.2. Résistance des bactéries.....	32
3.4.1.3. Activité antibactérienne de l'argent sous forme métallique.....	32
3.4.1.4. Dépôt composite TiO ₂ -Ag	35
3.4.2. Cuivre.....	37
3.4.2.1. Mécanisme d'action du cuivre	38
3.4.2.2. Résistance des bactéries au cuivre	38
3.4.2.3. Activité antibactérienne du cuivre sous forme métallique	39
4. Biofilms.....	41
4.1. <i>Qu'est ce qu'un biofilm ?</i>	41
4.2. <i>Cycle de vie d'un biofilm</i>	43
4.3. <i>Facteur de croissance</i>	45
4.3.1. Nature de la surface.....	45
4.3.2. Rugosité de surface	46
4.3.3. Eléments nutritifs	47
4.3.4. Vitesse d'écoulement	48
4.4. <i>Mécanisme de protection d'un biofilm</i>	49
4.5. <i>Modes de contaminations</i>	50
4.6. <i>Conclusion sur les biofilms</i>	50
5. Conclusion.....	51

1. Infection bactérienne : bactéries étudiées

Dans les travaux scientifiques de la littérature de nombreuses bactéries sont étudiées mais deux d'entre-elles focalisent une majorité des études : *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Ces deux bactéries sont présentées dans ce paragraphe et elles ont ensuite été utilisées dans notre travail.

1.1. *Escherichia coli*

E. coli est un bacille à Gram négatif. C'est un hôte commun de la microflore commensale intestinale de l'homme et des animaux à sang chaud (mammifères et oiseaux) [1]. C'est une de bactérie de « référence » pour la recherche, habituellement peu pathogène et d'une manipulation simple. Elle se reproduit toutes les 20 min *in vitro* et toutes les 3-5 h *in vivo* dans les conditions optimales de croissance. Le ralentissement observé *in vivo* est dû à une phase de latence plus longue liée au milieu nutritif. Typiquement elle se présente sous la forme de bâtonnets de 2-4 μm de longueur (Figure I-1).

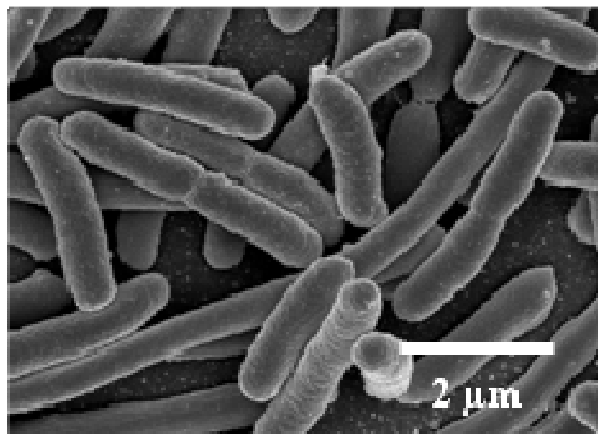


Figure I-1. Image MEB de *Escherichia coli* [2].

Certaines souches d'*E. coli* présentent un pouvoir pathogène comme *E. coli* O157:H7 qui se retrouve dans les aliments non stériles tels que le lait cru, les plats non cuisinés et dans la viande (steak haché). Par exemple, 69 personnes ont été infectées avec *E. coli* O157:H7 suite à la consommation de steaks hachés en 2005 dans le sud de la France [3]. Les symptômes couramment associés avec cette bactérie sont la diarrhée et la gastro entérite [1]. Dans notre cas elle servira de référence pour la famille des bactéries à Gram négatif.

1.2. *Staphylococcus aureus*

S. aureus est un cocci à Gram positif. C'est une bactérie pyogène et toxigène, responsable de nombreuses infections communautaires et nosocomiales qui représente donc un problème de santé publique important. Elle provoque de nombreuses infections suppuratives dues à la multiplication de la bactérie et des infections toxiques liées à la diffusion de toxines spécifiques [4]. Typiquement elle se présente sous forme de coques sphériques de diamètre 1 μm (Figure I-2). *S. aureus* se trouve généralement dans les fosses nasales et sur la peau de personnes en bonne santé. Si elle pénètre dans le corps, elle peut causer des infections cutanées légères, telles que des furoncles ou des anthrax, ou des infections plus graves, comme des pneumonies ou des bactériémies.

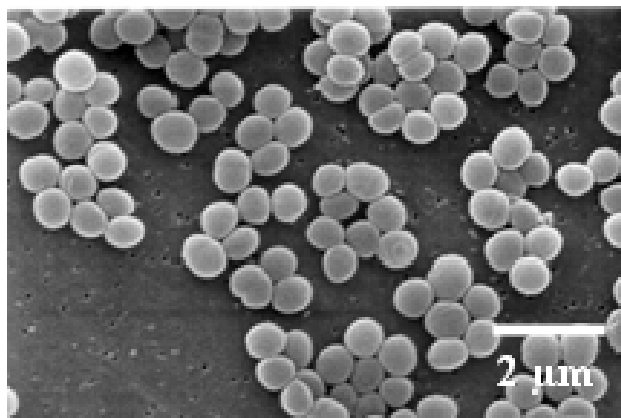


Figure I-2. Image MEB de *Staphylococcus aureus*.

Souvent la méthicilline s'utilise pour traiter les infections dues au *S. aureus*. Bien qu'elle soit très efficace dans le traitement de la plupart de ces infections, certaines souches de *S. aureus* ont développé une résistance à cet antibiotique [5], c'est le cas des *S. aureus* méticillino résistants (SARM). De plus, ces souches particulières résistent à un grand nombre d'autres antibiotiques et, aujourd'hui, des recherches se focalisent sur le SARM pour trouver une solution. Quelques souches ont été décrites comme présentant une résistance à la vancomycine, seul antibiotique auquel la bactérie était restée sensible. *S. aureus* sera utilisé dans nos travaux comme bactérie de référence pour les Gram positif.

2. Produits antimicrobiens commerciaux

Les infections nosocomiales sont malheureusement souvent à la une de l'actualité. Elles sont définies selon le ministère de la santé comme : « *des infections contractées dans un établissement de santé. Une infection est considérée nosocomiale si elle était absente au moment de l'admission du patient dans l'établissement de santé. Lorsque l'état infectieux du patient à l'admission est inconnu, l'infection est généralement considérée comme nosocomiale si elle apparaît après un délai d'au moins 48 h d'hospitalisation ou un délai supérieur à la période d'incubation de l'infection* » [6]. Il existe plusieurs types d'infections nosocomiales relevant de modes de transmission différents :

- les infections d'origine "endogène" : le malade s'infecte avec ses propres micro-organismes à la faveur d'un acte invasif et/ou en raison d'une fragilité particulière ;
- les infections d'origine "exogène" : les micro-organismes ont pour origine les autres malades (transmissions croisées entre malades ou par les mains ou matériels des personnels), les personnels ou la contamination de l'environnement hospitalier (eau, air, équipements, surface, alimentation...).

Les infections nosocomiales représentent selon le pays européen de 4,9 à 8,5 % des personnes admises en milieu hospitalier en Europe et 5,4 % en France en 2006. Par exemple, en Angleterre le SARM a été responsable de 7000 infections en 2002 pour un coût approximatif de 1,5 milliards d'euros [7]. Cette bactérie est responsable d'environ 30 % des infections détectées en France. Pour simplifier les calculs, on peut estimer le coût des infections nosocomiales à 5 milliard d'euros par an pour 60 millions d'habitants (environ la population française). En 2007, l'Union Européenne compte environ 500 millions d'habitants, ce qui conduit à une estimation du coût annuel des infections nosocomiales de l'ordre de 40 milliard d'euros. Cette estimation impressionne d'autant plus que ce coût n'intègre pas les infections provenant de l'industrie alimentaire, des tours de réfrigération, des systèmes d'aération et de traitement de l'eau.

La recherche de solutions pour lutter contre les modes de contamination s'est accentuée depuis plusieurs années et des produits existent sur le marché. Quelques un des

principaux agents utilisés de manière curative ou préventive sont commentés ci-après (biocides, triclosan, sels d'ammonium quaternaire, argent, etc.). Aujourd'hui, de nombreux produits antibactériens sont commercialisés dans des objets du quotidien comme les savons, brosses à dents, vêtements, produits cosmétiques, etc. (Figure I-3).

Une solution préventive, relevant de l'ingénierie des surfaces, consiste à déposer une couche mince antibactérienne fonctionnalisant le matériau de base à protéger afin d'éviter, ou du moins de limiter, la prolifération des bactéries et donc la formation de biofilms. Un état de l'art plus spécifique des revêtements antibactériens appliqués sur des objets commerciaux est ensuite rapporté.

2.1. Produits Biocides

Pour lutter contre les biofilms, le nettoyage chimique par des agents antibactériens du marché est la solution la plus courante. Cependant l'efficacité est encore loin d'être pleinement satisfaisante car le mécanisme moléculaire des bactéries est bien plus complexe dans ce cas. Certaines études ont montré que le traitement de nettoyage par des antibiotiques ou biocides est efficace pour enlever le biofilm sous réserve que l'on suive une procédure bien précise [8]. Cependant, cette approche n'est que curative.

2.2. Produits utilisant le triclosan

Le triclosan (2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether) est un produit très connu et très étudié [9-11]. Sa première commercialisation dans l'industrie des soins date de 1972 [12]. Son efficacité n'est plus à démontrer car cela fait plus de trente ans qu'il est utilisé. Cependant cela ne va sûrement pas encore continuer, d'ailleurs certains pays l'ont déjà interdit, car il pose un problème pour l'écosystème et des mécanismes de résistance des bactéries ont été détectés [13, 14].

Le triclosan se trouve par exemple dans de nombreux objets domestiques quotidiens : dentifrice, liquide vaisselle, savon liquide, mousse de rasage, déodorant, sols, etc. Il est donc largement employé mais également beaucoup étudié pour ses inconvénients. La plupart des études ont révélé les mêmes tendances de toxicité. Par exemple, lorsqu'il est utilisé en forte concentration, il favorise le développement d'allergie à long terme [15]. En plus, ce produit chimique réagit très rapidement dans le milieu aquatique [16, 17]. Le triclosan est extrêmement persistant et toxique pour le milieu marin [18].

La figure I-3 montre quelques exemples des produits qui sont susceptibles de contenir du triclosan en surface: filtres de systèmes de climatisation, jouets d'enfant, peintures, claviers d'ordinateur, etc. [19].

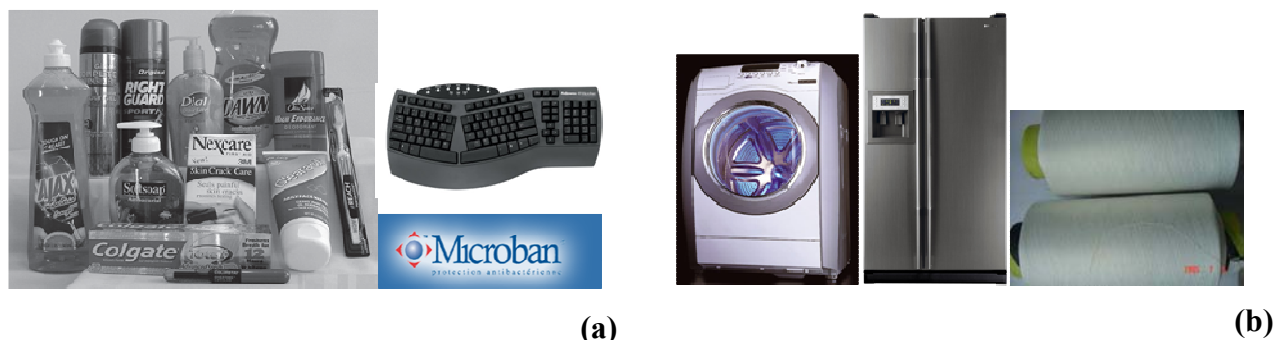


Figure I-3. Exemples de produits commerciaux contenant du triclosan (a) ou de l'argent (b) comme agent antibactérien [15].

2.3. Ammoniums quaternaires

Les sels d'ammonium quaternaire dénommés « Quaternary Ammonium Salts (QAS) » présentent des propriétés antibactériennes [9]. On les retrouve dans des lotions, des crèmes cosmétiques, le traitement du bois (anti-moisissure) ou dans l'industrie du cuir [11, 20].

2.4. Produits utilisant de l'argent

Des nanopoudres d'argent sont ajoutées dans des brosses à dents, des dentifrices, des produits cosmétiques, des savons, des textiles en faibles quantités (0,008-0,009 %) [21], ou en quantités nettement plus importantes (3,6 à 9,0 %) dans les produits dits « nano-silver » [22]. L'argent est également présent dans des appareils électroménagers comme le lave linge [23], le réfrigérateur [24], l'ordinateur, etc. (Figure I-3).

Malgré cette exploitation commerciale, plusieurs questions se posent. Quelle est l'efficacité réelle ? Est-ce que ces produits sont toxiques ? Quel est le service rendu pour la santé ? Diminuent-ils les contaminations ? Sur ces produits commerciaux, nous ne trouvons cependant que très peu d'informations précises et aucun label s'appuyant sur des normes

sérieuses n'existe aujourd'hui. Cela signifie que pour certains d'entre eux, l'effet réel ne semble être que « marketing » !

Le paragraphe suivant apporte plus d'informations sur les produits antibactériens qui sont incorporés à des fins préventives dans la masse des matériaux ou sur leur surface sous forme de films minces fonctionnels recouvrant les objets.

3. Composés intégrés dans des matériaux ou des surfaces

Sont décrites ici des études antérieures de la littérature. Même si certains produits antibactériens sont déjà commercialisés (par exemple : furanone, Ag), il reste de nombreux aspects à approfondir, d'une part pour mieux comprendre les mécanismes d'action et d'autre part pour élargir leur application à d'autres matériaux de base car la demande est croissante et de plus en plus diversifiées.

3.1. Produits organiques

Les produits organiques sont connus pour leur efficacité envers les bactéries. Certains laboratoires les utilisent pour les intégrer soit dans le matériau massif soit dans un dépôt sur la surface d'une pièce. Ce paragraphe présente quelques produits étudiés dont certains sont commercialisés.

3.1.1. Furanone

Ce composé est utilisé comme un agent antibactérien [25-27]. Le nom chimique complet est le 3-(10-bromohexyl)-5-dibromométhylène-2(5 H)-furanone et sa structure est présentée sur la figure I-4. La furanone attaque l'ADN de multiplication des bactéries [28].

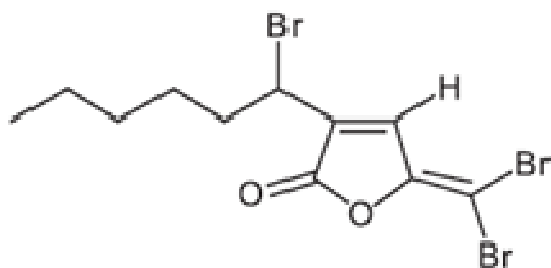


Figure I-4. Structure de la furanone utilisée comme agent antibactérien [28].

Baveja *et al.* [28] ont étudié la possibilité d'employer cette molécule afin d'améliorer les caractéristiques des matériaux couramment utilisés dans le domaine de la santé, par exemples les polymères : PVC, PE et PTFE. Une solution contenant 1 mg/ml de furanone dans de l'éthanol est étalée sur la surface d'un polymère. Après évaporation du solvant, la furanone adhère sur la surface par physisorption. Cet agent agit en tant qu'analogue structural des homosérines lactones et interfère donc avec le « quorum sensing » des bactéries.

Le « quorum sensing » est un mécanisme par lequel les bactéries évaluent leur densité de population par rapport aux conditions environnementales (aliments, composés toxiques, etc.). Cela leur permet d'adopter de nouveaux comportements [29].

En plus de son caractère antibactérien, la furanone modifie la mouillabilité de la surface (diminution de l'angle de contact). La figure I-5 présente la capacité antibactérienne de la furanone avec plusieurs types de substrats. Les bactéries sont dénombrées après avoir été en contact pendant 1 h avec une surface de 2 cm² traitée et non traitée. Les bactéries sont ensuite récupérées dans une solution et dénombrées. Le résultat montre que l'effet de la couche de furanone réduit le nombre de bactéries sur toutes les surfaces traitées d'environ 1 log [30, 31]. L'effet de ce composé n'est donc que partiel.

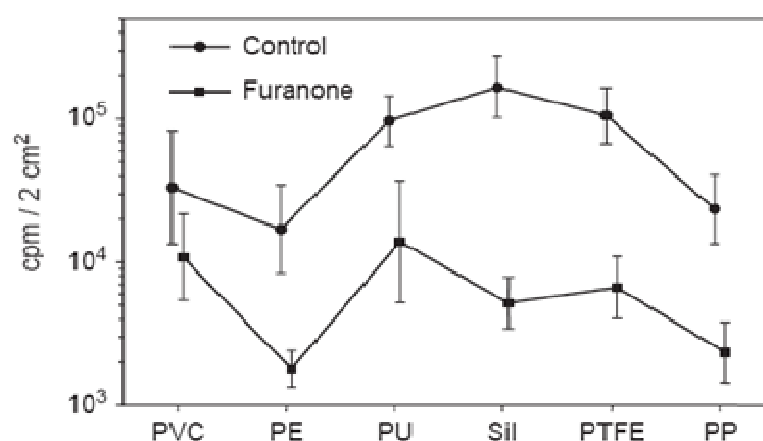


Figure I-5. Nombre de bactéries après contact pendant 1 h en fonction du substrat revêtu de furanone ou non après 24 h (cpm : coups par minute) [30].

3.1.2. Sels d'ammoniums quaternaires

Les sels d'ammonium quaternaire (abréviation anglaise : QAS) sont des composés chimiques souvent employés avec des matériaux polymères. Leur activité antibactérienne est reportée pour la première fois en 1915 par Jacobs et Heidelberg [32]. Ils endommagent la membrane cytoplasmique des bactéries en la solubilisant (effet surfactant). Les QAS interfèrent aussi avec les mécanismes de respiration. Les constituants cellulaires s'enfuient de la cellule entraînant ainsi la mort de la bactérie [33, 34].

Marini *et al.* [35] ont élaboré des couches minces sur des plaques en polyéthylène basse densité (LDPE) par le procédé sol-gel contenant environ 10^{-3} mol.g⁻¹ de QAS. Son équipe a testé l'activité antibactérienne sur *E. coli* (ATCC 25922) et *S. aureus* (ATCC 6538). La figure I-6 montre un résultat qualitatif de l'activité du film antibactérien par rapport au témoin. Les échantillons sont placés sur une plaque de géloseensemencée de bactéries puis incubés 24 h à 37 °C. L'effet antibactérien de la surface apparaît clairement puisque très peu de colonies se sont développées sur la surface de l'échantillon traité par rapport au témoin.

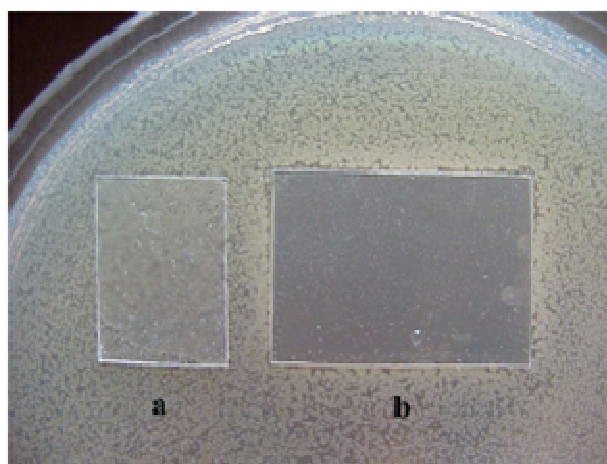


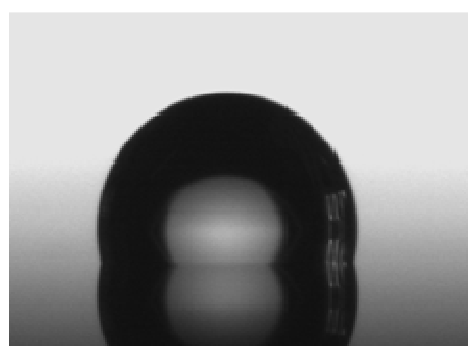
Figure I-6. Résultat qualitatif de l'activité antibactérienne avec *S. aureus* : (a) témoin et (b) échantillon traité par le QAS [35].

Pour quantifier l'effet du QAS, des échantillons revêtus ont été immergés dans une suspension de bactéries (10^6 UFC.ml⁻¹) avec une agitation régulière et incubés à 37 °C pendant 0, 24, 48 et 96 h [20]. Ensuite les bactéries survivantes ont été dénombrées. Une surface ne contenant pas de QAS n'a aucune activité antibactérienne. Pour une concentration de 1.7×10^{-3} mol_{QAS}/g_{coating}, le résultat montre qu'après 48 h, le dépôt a éliminé

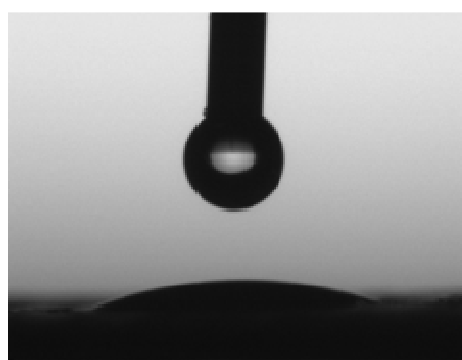
respectivement 96,4 et 99,1 % pour *E. coli* et *S. aureus*. Dans ce cas, le QAS ne présente qu'une efficacité partielle. Holah *et al.* [36] sont plus sévères en montrant que ce produit chimique est peu efficace en tant qu'agent antibactérien.

3.2.Effet de l'énergie de surface

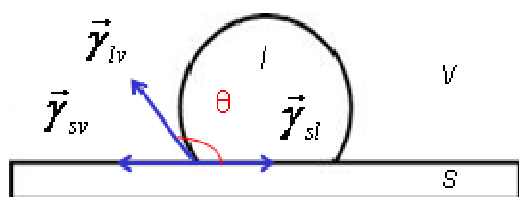
L'angle de contact permet de calculer l'énergie d'une surface solide, donc en d'autres termes sa stabilité ou sa réactivité. Plus l'angle de contact est élevé (surface hydrophobe) plus l'énergie de surface est faible (grande stabilité donc faible réactivité). En revanche, si l'angle de contact est bas (surface hydrophile) l'énergie devient plus importante. L'énergie d'une surface se calcule à partir de l'équation de Young (Figure I-7).



$\theta=100^\circ$ Surface hydrophobe



$\theta=36^\circ$ Surface hydrophile



$$\gamma_{lv} \cdot \cos \theta = \gamma_{sv} - \gamma_{sl}$$

Figure I-7. Micrographie d'une goutte d'eau sur une surface hydrophobe et hydrophile. Détermination de l'angle de contact θ [37].

Lors des deux dernières décades, l'adhésion de bactéries sur des surfaces présentant différentes énergies de surface a été étudiée [38]. Les résultats ont montré que l'adhésion diminue avec des substrats dont l'énergie de surface est faible [39-42]. Liu *et al.* [38] ont confirmé ce résultat avec leurs expériences concernant des surfaces d'acier inox 304 revêtues de Ni-P-PTFE déposé par électrodéposition (Figure I-8). Par contrôle des paramètres de

dépôt, ils ont balayé une large gamme d'énergie de surface. Les échantillons ont ensuite été trempés dans une suspension d'*E. coli* (10^9 UFC.ml⁻¹) pendant 30 min et 18 h à 37 °C. Ensuite les bactéries qui ont adhéré sur la surface ont été dénombrées.

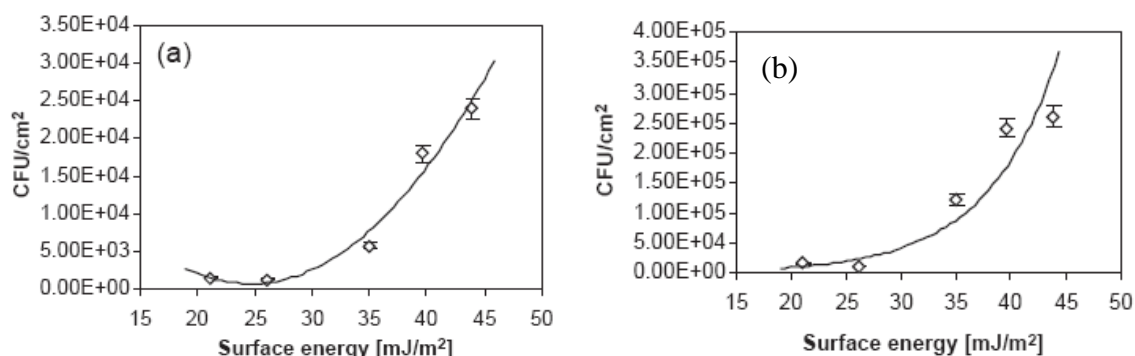


Figure I-8. Effet de l'énergie de surface sur l'adhésion d'*E. coli* XA90. Temps de contact : 30 min (a) et 18 h (b) [38]

E. coli adhère moins sur une surface à faible énergie (20-25 mJ.m⁻²). Les dépôts de Ni-P-PTFE sont hydrophobes et ils réduisent sensiblement l'adhésion d'*E. coli* XA90 par rapport à une surface hydrophile. Par contre, d'autres études démontrent le contraire [43, 44]. Par exemple Jonsson *et al.* ont détecté que l'adhésion bactérienne diminuait avec l'augmentation de l'énergie de surface [45]. Ce résultat contredit le précédent et il prouve que le problème est plus complexe et que le contrôle de l'énergie d'une surface ne suffit pas pour éviter l'adhésion des bactéries sur celle-ci. De nombreux travaux contradictoires entre eux continuent à être publiés fréquemment [41, 46-49].

3.3. Dioxyde de titane

Le but de nos travaux est d'utiliser le dioxyde de titane (TiO₂) comme matrice pour englober les micro- ou nano-particules d'argent ou de cuivre. L'objectif final est que nos surfaces soient actives en l'absence de lumière. Néanmoins, l'association des propriétés photocatalytiques du TiO₂ et des agents métalliques antimicrobiens a été étudiée dans ce mémoire car des propriétés multifonctionnelles sont toujours un atout pour des surfaces solides. En effet, le TiO₂ de structure cristalline anatase présente une activité antimicrobienne résultant d'un effet photocatalytique lorsqu'il est irradié par des UV-A.

Le TiO_2 existe sous différentes formes cristallines stables : le rutile, l'anatase et la brookite (Tableau I-1). La structure anatase est reconnue pour être la plus active en photocatalyse. C'est un semiconducteur à grande largeur de bande interdite (gap) : $E_g = 3,2$ eV. Les différentes structures sont présentées sur la figure I-9. La comparaison des volumes occupés par une unité de TiO_2 dans les trois structures montre que la compacité diminue suivant la séquence rutile > brookite > anatase (Tableau I-1). L'anatase est la moins compacte des trois phases.

Nom	Dioxyde de Titane, Oxyde de Titane (IV), Titania		
Formule Chimique	TiO_2		
Masse molaire g.mol^{-1}	79,890		
Apparence	Solide blanc		
Phase Cristalline	Rutile	Anatase	Brookite
Système cristallin	Quadratique	Quadratique	Orthorhombique
$a(\text{\AA})$	4,5845	3,7842	9,184
$b(\text{\AA})$	-	-	5,447
$c(\text{\AA})$	2,9533	9,5146	5,145
Densité	4,27	3,89	4,12
Volume d'espace par unité TiO_2 (\AA^3)	31,0	34,1	32,2

Tableau I-1 : Quelques propriétés des variétés allotropiques stables de TiO_2 [50].

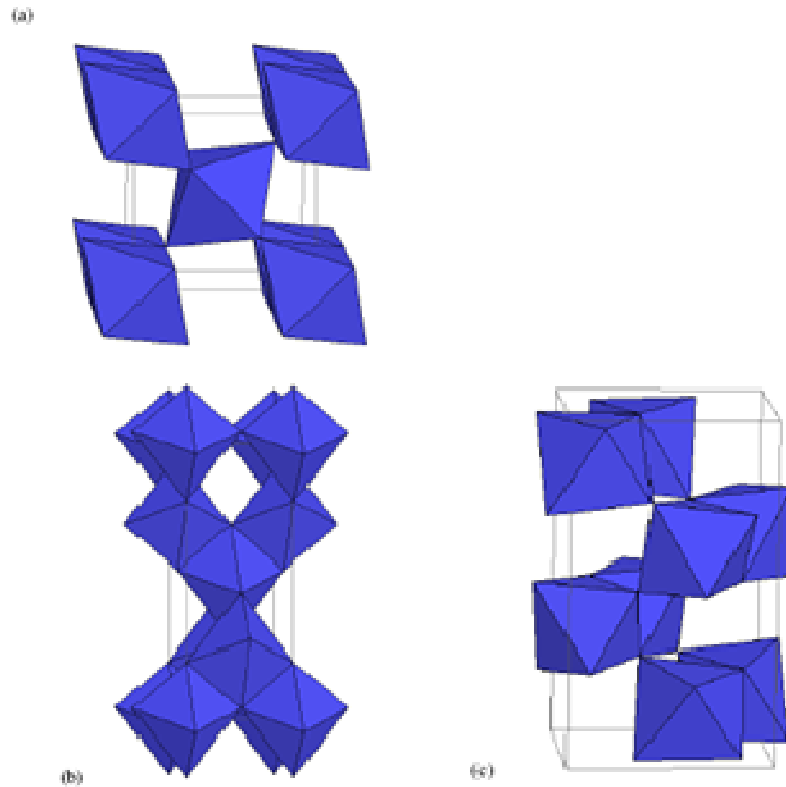
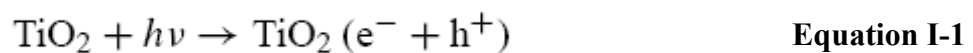


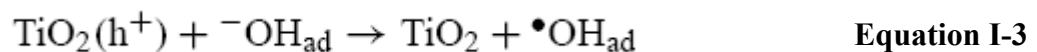
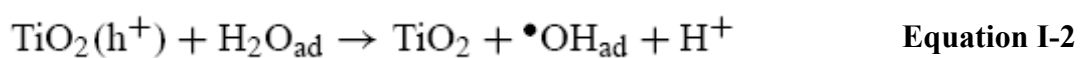
Figure I-9. Schéma de la maille élémentaire et de l'enchaînement des octaèdres TiO_6 de chacune des trois variétés cristallines courantes de TiO_2 : rutile (en haut) ; anatase (en bas à gauche) ; brookite (en bas à droite) [50].

Le rutile est la structure cristallographique la plus stable thermodynamiquement. La stabilité respective des deux phases rutile et anatase peut s'inverser quand les cristaux deviennent de taille nanométrique.

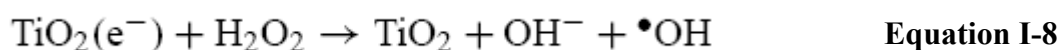
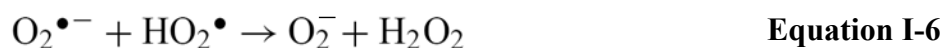
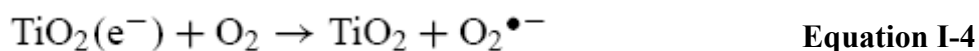
Le dioxyde de titane a beaucoup été étudié pour ses propriétés photo-induites. Sous une longueur d'onde inférieure à 385 nm (UV), un électron de la bande de valence (VB) reçoit une énergie suffisante pour être éjecté dans la bande de conduction (CB) générant ainsi une paire électron-trou (Equation I-1) [51].



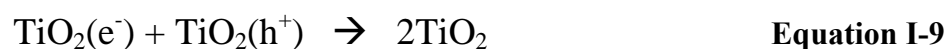
Puis, les trous réagissent avec l'eau ou les anions OH^- adsorbés sur sa surface pour former des radicaux hydroxyles. Les réactions sont présentées ci-dessous :



L'électron réagit avec l'oxygène O₂ pour former l'ion superoxyde (Equation I-4) qui, a son tour, peut réagir avec un proton pour former un radical hydroxyle (Equations I-5 à I-8).



Ces paires électron-trou ont une durée de vie de l'ordre de la picoseconde. En l'absence d'accepteur et de donneur d'électron, elles se recombinent (Equation I-9) :



Les radicaux hydroxyles (°OH) ont le potentiel d'oxydation le plus élevé (2,8 V). Ils sont très actifs envers les substances organiques et capables d'inactiver des micro-organismes en les dégradant. De nombreux travaux présentent l'action du TiO₂ envers les bactéries suivantes : *E. coli*, *Bacillus pumilus*, *Salmonella Typhimurium*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas stutzeri*, *S. aureus*, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus rattus*, *Actinomyces viscosus*, *Streptococcus sobrinus*, *Bacillus subtilis*, spores de *Clostridium perfringens* [52].

Les propriétés du dioxyde de titane [51-60] sont étudiées et exploitées sous deux formes : soit sous forme de poudre en suspension dans un liquide [52, 54, 55] soit sous forme d'un film mince déposé sur un support solide [51, 60, 61].

3.3.1. Poudre de TiO₂ en suspension dans un liquide

A titre d'exemple, les travaux de Robertson *et al.* [58] ont montré que l'activité antibactérienne de la poudre de dioxyde de titane (produit commercial P25 Dégussa) sur *E. coli* K12 (Figure I-10). L'activité sous UV-A est comparée à deux références : une sans UV et

une avec exposition aux UV-A en l'absence de TiO₂. Pour ces essais, un flux d'UV de $3,42 \times 10^{-5}$ Einsteins.s⁻¹ sous une longueur d'onde de 330–450 nm était utilisé.

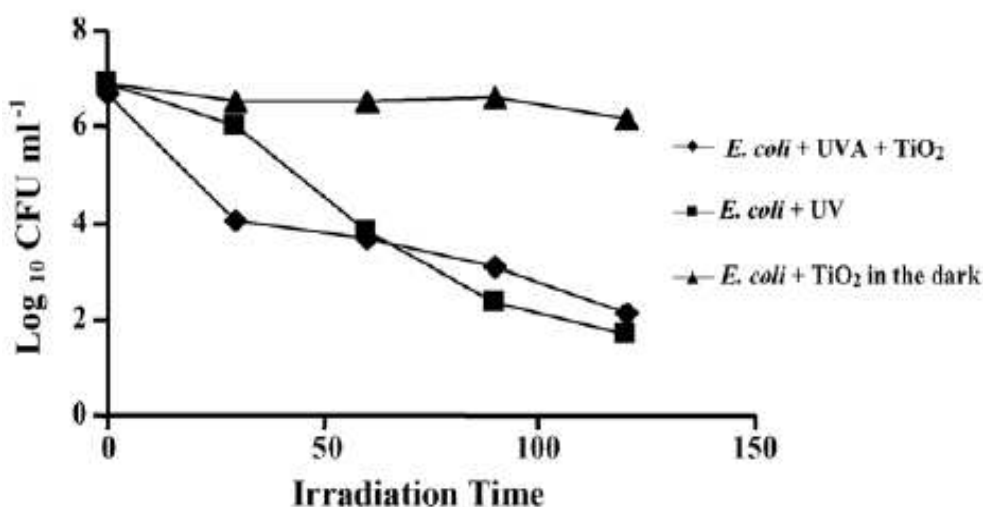


Figure I-10. Effet des UV-A et de TiO₂ sur la viabilité d'*E. coli* K12 [58].

Le nombre de bactéries en présence uniquement d'UV-A et d'UV-A plus du dioxyde de titane a été suivi en fonction du temps. Avec le TiO₂ en présence d'UV-A, il passe de 7 à 2 log en 120 minutes. Ces travaux sont intéressants car les auteurs ont comparé cette activité avec simplement une exposition aux UV-A. En effet, les UV-A ont aussi une activité antibactérienne résultant d'un effet de photolyse. L'activité est plus faible pour des temps d'exposition courts (25 min) mais elle devient similaire au-delà de 60 minutes. La vitesse initiale de disparition des bactéries est supérieure en présence de TiO₂ sous irradiation UV en raison d'un effet photocatalytique.

Ils ont aussi testé l'activité sur d'autres bactéries (Tableau I-2): *Salmonella* Enteritidis (Gram négatif) et *P. aeruginosa* (Gram négatif) [58]. Sur *Salmonella* Enteritidis, le TiO₂ a un effet significatif alors qu'il n'apporte pas d'activité supplémentaire par rapport aux UV-A seuls pour *E. coli* et *P. aeruginosa*. L'effet antibactérien du TiO₂ devrait toujours être comparé avec un essai sans TiO₂ en présence du même éclairage. Le TiO₂ seul en l'absence d'UV n'a pas d'activité (Figure I-10).

Bacteria	TiO ₂ photocatalysis		UVA light only	
	Initial count	Final count	Initial count	Final count
<i>E. coli</i>	5.2×10^6	150	8.0×10^6	50
<i>S. enteritidis</i>	1.7×10^7	825	1.3×10^7	4.0×10^3
<i>Ps. aeruginosa</i>	1.0×10^7	1016	1.1×10^7	50

Tableau I-2. Dénombrement des bactéries (UFC.ml⁻¹) après 2 h d’irradiation de TiO₂ sous UV-A [58].

3.3.2. Films de TiO₂ supportés

Rincon *et al.* [51] ont fixé du TiO₂ sur une membrane de nafion par trempage dans une solution contenant une poudre de TiO₂ (P25 Degussa). Les essais d’activité ont été conduits avec une lampe simulant le spectre solaire ($\lambda = 300 - 800$ nm). Cette équipe a étudié l’activité photocatalytique du TiO₂ avec deux densités lumineuses de 400 et 1000 W.m⁻² (Figure I-11). Sans lumière, aucune activité antibactérienne n’a été détectée. Pour une intensité de 400 W.m⁻², aucune bactérie n’a été détectée après 50 min d’irradiation contre seulement 20 min sous un flux de 1000 W.m⁻². Dans les deux cas, une référence sans TiO₂ a été tracée. Comme dans l’exemple précédent, l’activité globale est une combinaison de l’éclairage (effet photolytique) et du TiO₂ (effet photocatalytique). La comparaison de l’activité entre les deux essais sans TiO₂ montre l’effet de l’intensité lumineuse sur l’activité antibactérienne (400 et 1000 W.m²). Pour information, l’intensité de 1000 W.m² correspond à l’intensité maximum du soleil sur terre.

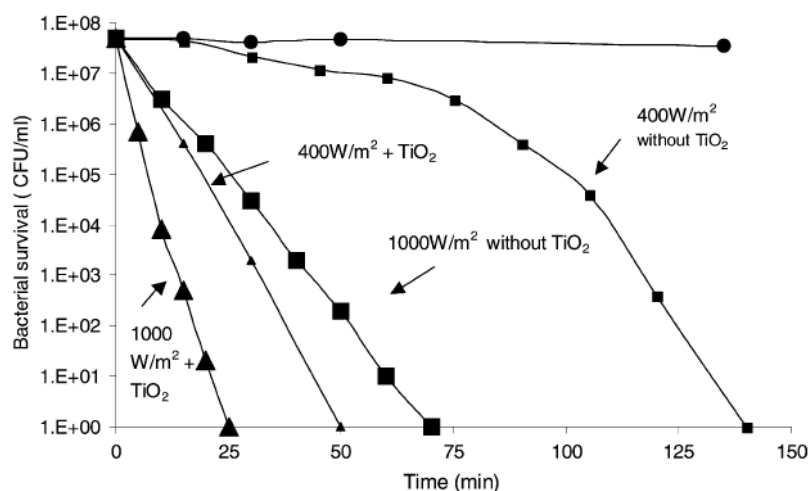


Figure I-11. Nombre de *E. coli* en fonction du temps d'irradiation pour deux intensités 400 et 1000 W.m⁻² simulant le spectre solaire avec (▲) et sans (■) TiO₂ (concentration initiale de 10⁷ cellules/ml). Un essai dans le noir (●) sert de référence [51].

Amegaza *et al.* [56] ont démontré l'efficacité photocatalytique de dépôts de TiO₂ préparés par sol-gel envers une autre bactérie qui a une forme ovoïde : *P. aeruginosa* (10⁸ UFC.cm⁻³). Pour être observées en microscopie électronique à transmission (MET), les bactéries sont déshydratées. La figure I-12a présente une vue en coupe transverse de *P. aeruginosa* (Gram négatif) et la figure I-12b une coupe longitudinale.

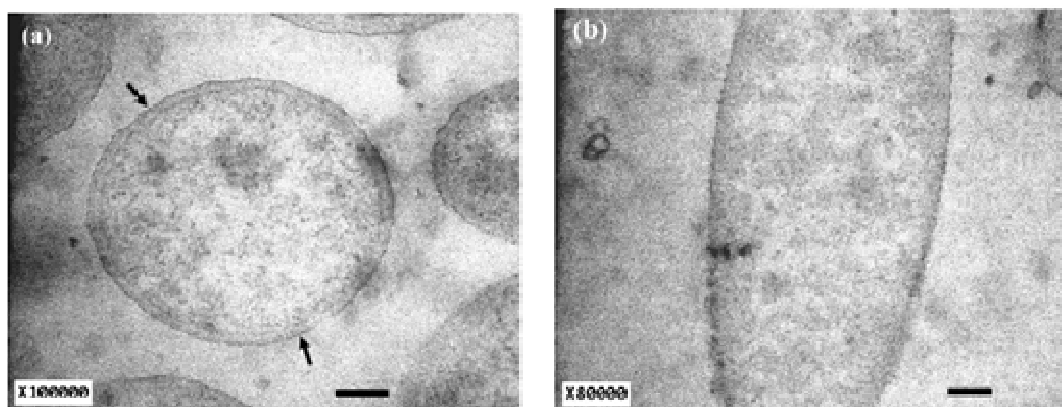


Figure I-12. Image MET en coupe transverse (a) et longitudinale (b) de *P. aeruginosa* sans traitement montrant la morphologie ovoïde de cette bactérie. Les flèches pointées sur la paroi montrent une épaisseur homogène sur toute la circonférence (échelle = 100 nm à gauche et 200 nm à droite) [56].

Après une irradiation de 240 min à 1000 W.m^{-2} (UV à 365 nm), ces auteurs ont constaté sur certaines bactéries que la paroi présentait des irrégularités sous forme de vagues (cf flèche sur la figure I-13a) [56]. Sur la coupe longitudinale de la figure I-12b, la bactérie était fortement déformée par rapport à la figure I-13b. Sur d'autres bactéries, une perforation de la paroi apparaissait avec la formation de « bulle » (Figures I-13c et I-13d). Deux hypothèses ont été proposées :

- les UV perturbent le mécanisme de division des bactéries ;
- la paroi des bactéries est attaquée par les radicaux photogénérés (hypothèse la plus probable).

La mort de la bactérie se déroule en deux étapes : premièrement, la paroi des bactéries est attaquée avec une déformation de celle-ci puis, deuxièmement la perforation est synonyme de mort pour la bactérie.

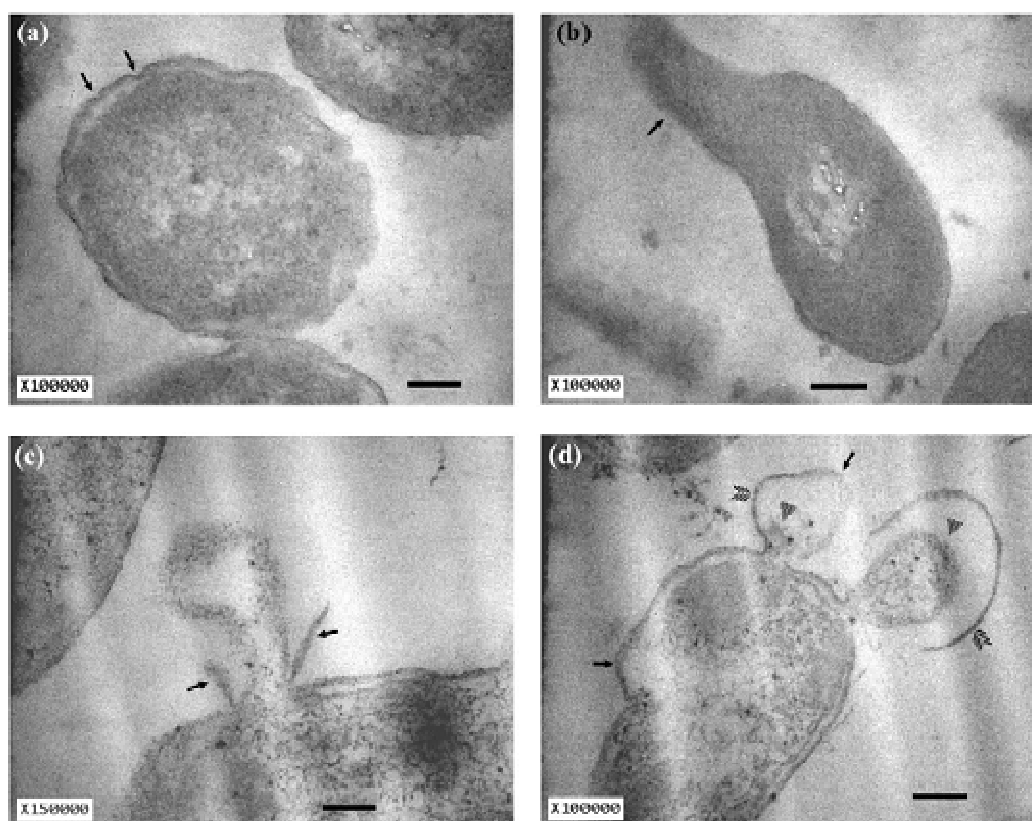


Figure I-13. *P. aeruginosa* après irradiation UV de 240 min (Echelle = 200 nm) [56].

3.3.3. Dopage du TiO₂

L'ajout d'un élément dopant avec du TiO₂ a été étudié pour deux raisons. D'une part pour augmenter l'activité sous lumière UV et d'autre part pour diminuer le gap optique (largeur de la bande interdite) afin de développer une activité sous lumière visible [62]. Nous rapportons ci-dessous les travaux d'un dopage d'une poudre de TiO₂ avec de l'argent et son influence sur les propriétés photocatalytiques [63-65]

Sung-Suh *et al.* [66] ont travaillé sur le dopage du TiO₂ sous forme de poudre avec de l'argent. Ils ont évalué la dégradation d'un colorant en solution Rhodamine B (10^{-5} mol.L⁻¹) sous irradiation visible (46 mW.cm^{-2} pendant 4 h) pour différentes teneurs relative en Ag entre 1 et 10 % (Figure I-14). L'activité photocatalytique atteint un maximum de dégradation lorsque le rapport Ag/Ti est de 2. Au-delà, l'effet du dopage devient négligeable.

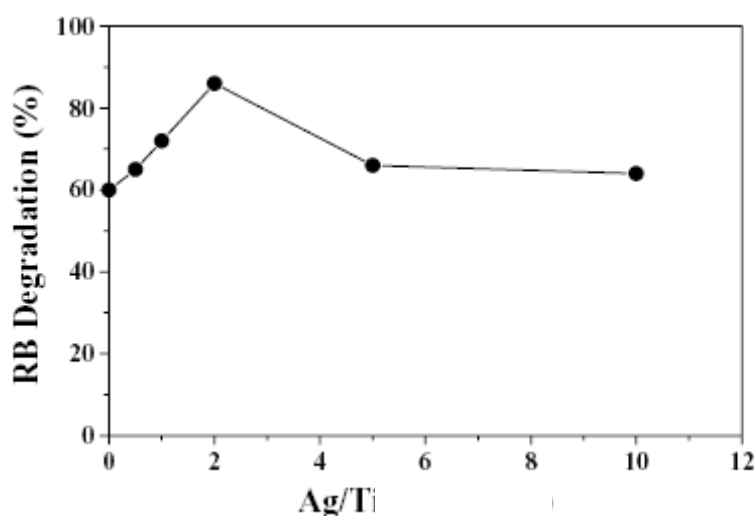


Figure I-14. Dégradation photocatalytique de la Rhodamine B en fonction de la teneur relative en argent sous irradiation visible (4 h) : concentration initiale de RB = 10^{-5} M et teneur de TiO₂ = 0,4 % massique [66].

En conclusion, l'activité photocatalytique du TiO₂ n'est plus à démontrer. Elle est largement décrite dans la littérature et certains de ces articles traitent spécifiquement de son action envers les bactéries [51, 56, 58]. Les radicaux photo-générés attaquent la paroi de la bactérie jusqu'à sa perforation et donc à la mort de la bactérie. L'effet antibactérien du TiO₂

nécessite l'utilisation d'UV et s'explique par un effet combiné de photolyse et de photocatalyse. D'autres matériaux présentent une activité antibactérienne en l'absence d'éclairage : ils sont décrits dans le paragraphe suivant.

3.4. Eléments métalliques

L'activité antibactérienne de certains éléments métalliques comme l'argent est connue depuis l'époque romaine [67]. En effet, ceux qui utilisaient des verres et des assiettes en argent tombaient moins malades. Ce privilège était évidemment réservé aux personnages importants [64].

L'étude plus scientifique sur les éléments métalliques antibactériens a commencé depuis quelques d'années [68]. Aujourd'hui les travaux se focalisent sur quelques éléments pour des raisons d'efficacité, de coût économique et de toxicité. Depuis les années 1980-1990, beaucoup d'éléments métalliques ont été étudiés : Ag [69-76], Zn [75, 77], Ni [75, 78], Cu [79-82], Pt [63, 83], Ge [84], Hg, Au [68, 85, 86], etc. Pour beaucoup les recherches sont plus rares comme pour le platine et l'or qui sont deux éléments antibactériens [63, 86], mais dont le coût est rédhibitoire pour des applications industrielles. Le mercure et le germanium sont trop toxiques pour l'homme [87] alors que le zinc présente une activité trop faible [69].

Aujourd'hui, les travaux se focalisent essentiellement sur l'argent et le cuivre : leur activité est décrite ci-après.

3.4.1. Argent

L'argent est l'élément fréquemment étudié dans ce domaine [88-92] grâce à sa grande efficacité pour de faibles teneurs [92]. Dans cette petite partie, les mécanismes d'action et de résistance envers les bactéries sont très sommairement évoqués avant de présenter quelques résultats de la littérature [82, 93-104]

3.4.1.1. Mécanisme d'action de l'argent

L'effet antibactérien des ions argent sur les micro-organismes est très connu [69]. Cependant le mécanisme précis d'action est complexe et n'est pas complètement identifié. Les ions Ag^+ interagissent fortement avec les groupements thiols des enzymes vitales en les

désactivant [101]. Feng *et al.* [69] ont aussi montré que l'ADN des bactéries perdait l'information de reproduction quand les bactéries (*E. coli.* et *S. aureus*) étaient exposées aux ions argent. D'autres travaux ont montré que les ions argent interagissaient avec les protéines (groupe de sulphydryl) [105-107] également avec les composantes internes des bactéries comme l'acide nucléique [108, 109]. Pour *E. coli*, la respiration est désactivée entraînant sa mort. Tous ces travaux confirment que les mécanismes d'action des ions argent sont particulièrement complexes et multiples.

3.4.1.2. Résistance des bactéries

Le fait que les bactéries soient parfois capables de résister en s'adaptant à l'ion Ag^+ est expliqué par la présence de plasmides. Beaucoup d'hypothèses ont été proposées [84, 110]. La figure I-15 est un exemple du fonctionnement d'une bactérie qui emploie ses plasmides Sil P (Sil = abréviation de « silver ») puis Sil E pour éjecter les ions Ag^+ vers l'extérieur de la cellule avec la coopération de Sil A-C.

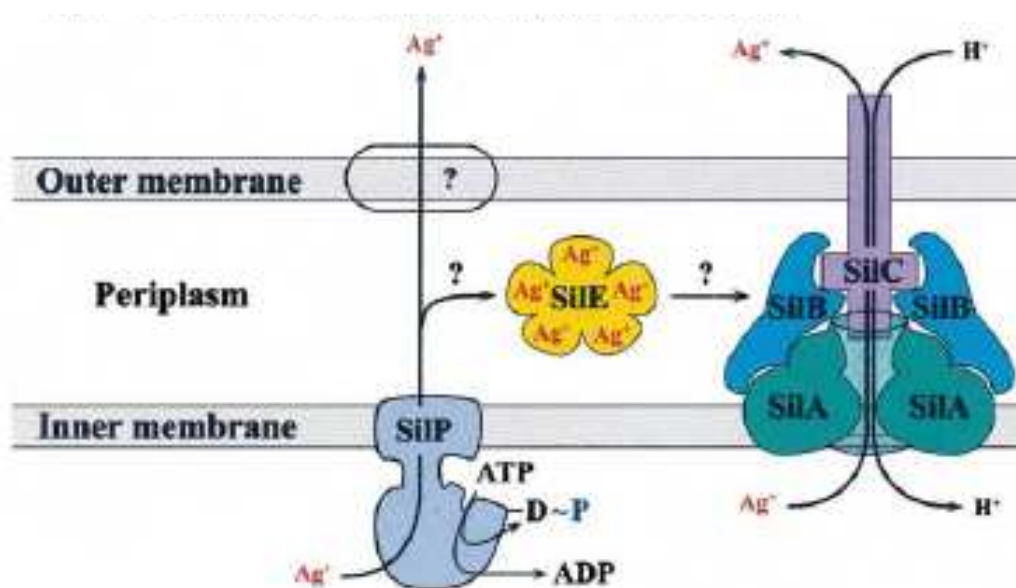


Figure I-15. Fonctionnement de chaque gène pour la résistance envers l'ion Ag^+ [110].

3.4.1.3. Activité antibactérienne de l'argent sous forme métallique

Les travaux de recherche sur des produits contenant de l'argent sont très nombreux. Le choix présenté ci-après a été guidé par leur pertinence par rapport aux objectifs de cette thèse.

Sondi *et al.* ont travaillé sur l'effet antibactérien de nano-particules d'argent dans un milieu liquide [70]. La distribution en taille est présentée sur la figure I-16. La taille moyenne était égale à 12 nm.

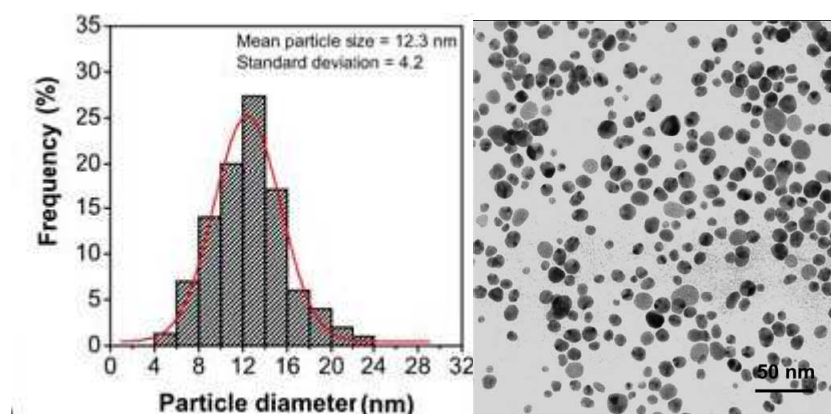


Figure I-16. Distribution de la taille des particules d'argent et exemple d'image MET [70].

Des essais antibactériens ont été réalisés sur *E. coli*. Le bouillon LB (« Lysogeny broth » : milieu très riche en nutriments) contient différentes concentrations en nanoparticules d'argent. Pour chaque essai approximativement 10^5 UFC ont été introduites. La figure I-17 montre l'évolution du nombre de colonies en fonction de la concentration en nano-particules d'argent. Une concentration de $10 \mu\text{g.cm}^{-3}$ diminue la croissance bactérienne de 70 %. La chute du nombre des colonies bactériennes pour les concentrations supérieures est plus importante et les colonies sont uniquement localisées sur le pourtour de la boîte de Petri. Pour une concentration de $50\text{-}60 \mu\text{g.cm}^{-3}$, aucune colonie n'a été dénombrée. Comme prévu, l'activité est proportionnelle à la concentration en nanoparticules d'argent. A toutes les concentrations, les nanoparticules d'argent entraînent un retard de croissance d'*E. coli* qui devient plus important pour les plus fortes concentrations. Ces résultats sont intéressants car comme nous le verrons la taille des nanoparticules est assez proche de notre cas.

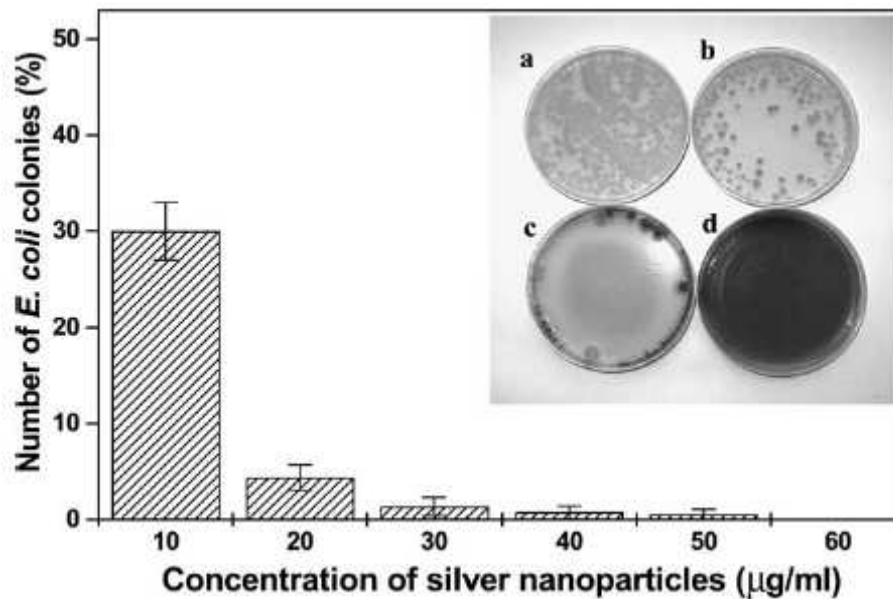


Figure I-17. Nombre de colonies de *E. coli* en fonction de la concentration de nanoparticules d'argent dans du LB gélose (Lysogeny broth) exprimé en pourcentage de colonies. Les images en haut à droite correspondent à différentes concentrations de nanoparticules d'argent : (a) 0, (b) 10, (c) 20, (d) 50 $\mu\text{g cm}^{-3}$ [70].

Une surface contenant 100 % d'argent ne peut pas être utilisée car l'argent noircit très rapidement par sulfuration [111, 112]. Plusieurs solutions existent, soit :

- il est introduit dans le matériau lors de son élaboration [75, 113] ;
- il est déposé en surface dans une matrice ou incorporé par implantation ionique [114, 115].

Cheng *et al.* [116] ont préparé un matériau composite à partir d'un mélange de poudre de $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ et de granulés de PVC. La taille moyenne des nanoparticules de $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ est de 70 nm avec un taux d'argent de 0,4 % massique. L'efficacité antibactérienne a été testée selon la norme JIS Z 2801 avec *E. coli* et *S. aureus*. Les résultats sont présentés dans le tableau I-3.

Testing bacteria	Concentration of check sample after 0 h (cfu/ml)	Concentration of check sample after 24 h (cfu/ml)	Bacteriostatic ratio (%)
<i>Escherichia coli</i> (8099)	1.52×10^5	1.02×10^4	93.29
<i>Staphylococci</i> (ATCC6538)	1.4×10^6	4.58×10^4	96.73

Tableau I-3. Résultat du test antibactérien (JIS Z 2801) en pourcentage de colonies [116].

L'efficacité antibactérienne était proche de 1,5 log sur *S. aureus* (97 %) et *E. coli* (93 %). Comme nous le verrons, selon la norme JIS, c'est une efficacité assez faible. Le fait d'incorporer de l'argent dans un produit massif oblige d'utiliser de grandes quantités d'argent pour un effet limité.

3.4.1.4. Dépôt composite TiO₂-Ag

Brook *et al.* [76] ont élaboré des dépôts bi-couches TiO₂/Ag par des technologies CVD (figure I-18). TiO₂ a été déposé par CVD thermique à partir de TTIP (Titanium tetraisopropoxide) à 500 °C ou de TiCl₄ à 650 °C. Le procédé « flamme assisted CVD » (FACVD) a été utilisé pour déposer la couche d'argent. Un aérosol d'une solution de nitrate d'argent a été décomposé dans une flamme (mélange propane-oxygène) et la température du substrat était de 300 °C. L'activité antibactérienne des essais a été mesurée par le test BS EN 13697(2001) [117], qui est proche du test standard JIS Z 2801. La figure I-18 présente l'activité antibactérienne des échantillons recouverts de :

- 80 nm de TiO₂
- 60 nm d'Ag
- bi-couches Ag (60 nm) + TiO₂ (80 nm) en surface externe.

Les échantillons étaient irradiés à 365 nm avec un flux de 2,24 mW.cm⁻².

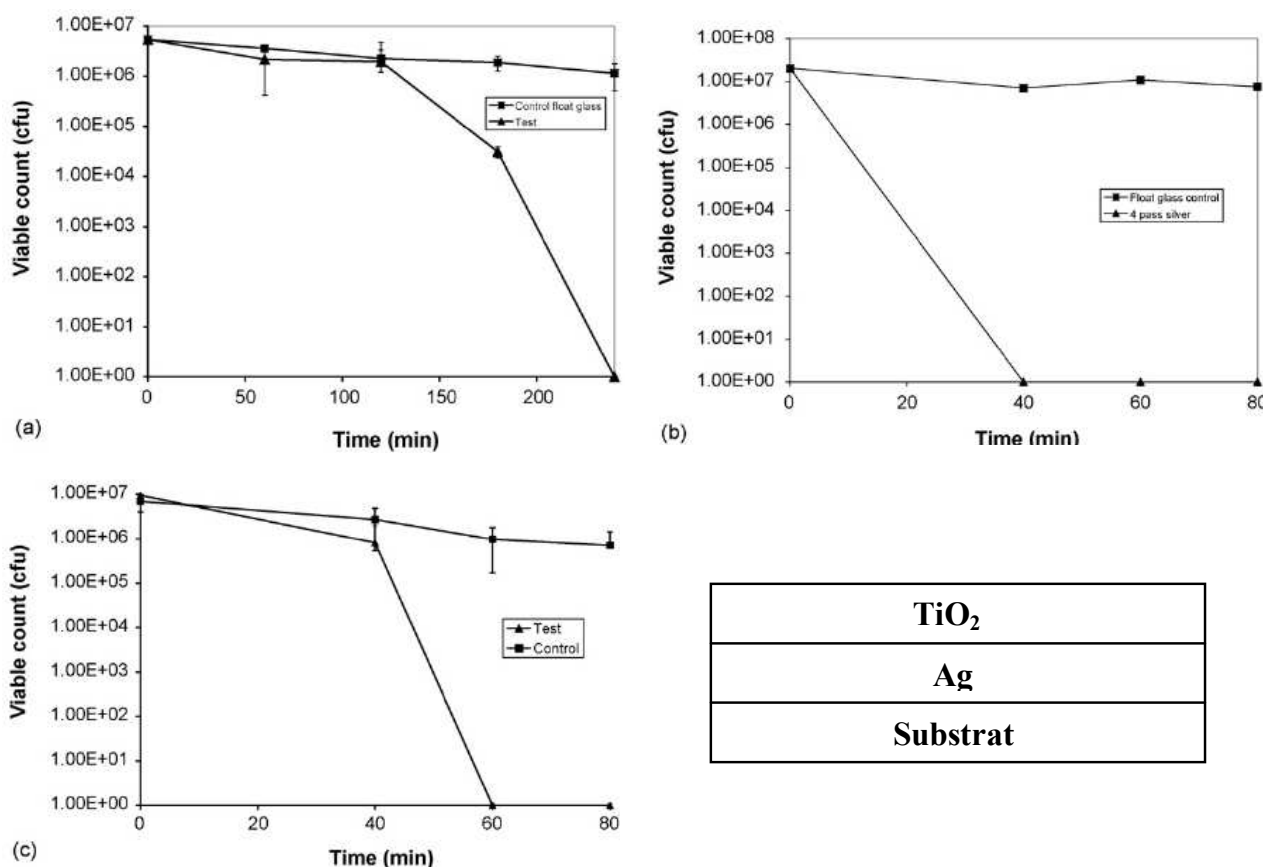


Figure I-18. Activité antibactérienne en fonction du temps d’irradiation d’échantillons : (a) TiO₂ seul (▲), (b) Ag seul (▲) et (c) bi-couches Ag+TiO₂ (▲) avec le témoin sans dépôt fonctionnel (■) [76].

Les résultats montrent que le dépôt d’argent est le plus actif. Le dépôt de TiO₂ est bactéricide pour un temps d’exposition de 250 min alors qu’il n’est que de 40 min pour l’argent. Le dépôt bicouche présente une activité plus élevée (bactéricide à 60 min) que le dépôt de TiO₂ mais plus faible que celui du film d’Ag. Dans les conditions de tests, les UV-A seuls présentent une faible activité antibactérienne (échantillon test sur les 3 courbes).

Pour l’échantillon recouvert d’un film d’argent, une diffusion de l’argent a été observée en fonction du temps d’irradiation. L’activité du dépôt bi-couche, intermédiaire entre celle de TiO₂ et Ag, s’explique par une combinaison de l’activité de l’argent et du TiO₂ photocatalytique. Par contre, il aurait été intéressant que les auteurs évaluent l’activité du dépôt d’argent en l’absence d’UV. La taille des cristallites d’argent et de TiO₂ anatase a été estimée à 21-37 nm et 33 nm, respectivement, par la formule de Scherrer.

D'autres publications traitent d'un dépôt bicouches TiO_2/Ag élaboré par CVD à partir d'organométalliques (MOCVD) sur du charbon actif [118], mais l'activité antibactérienne de ces dépôts n'est pas décrite puisqu'ils ont été optimisés pour des applications photocatalytiques. Comme nous le discuterons plus loin, l'intérêt de ces travaux antérieurs est la similitude du procédé de dépôt et les caractéristiques de ces dépôts. Ils présentent des nanoparticules d'argent de 1 à 5 nm (observations MET) dans une matrice de TiO_2 anatase avec une taille de cristallite de 20-50 nm. L'application visée est l'amélioration des propriétés photocatalytiques du TiO_2 et, dans leur cas, l'addition d'argent augmente l'activité photocatalytique pour un rapport atomique Ag/Ti de 0,02-0,06.

Joen *et al.* [73] ont déposé par sol-gel un dépôt composite ($\text{SiO}_2\text{-Ag}$) sur verre avec 3,46 % molaire d'argent. Ils ont évalué l'activité antibactérienne avec un test d'activité FC-TM-20 proche de la norme JIS Z 2801 (qui nous servira de référence par la suite) avec *E. coli* et *S. aureus*. La réduction du nombre de bactéries par rapport au témoin est d'environ 5 log (Tableau I-4). Les résultats montrent une forte activité antibactérienne de ces dépôts $\text{SiO}_2\text{-Ag}$ envers *E. coli* et *S. aureus*. Une telle décroissance selon la norme japonaise, révélerait une surface bactériostatique.

Bacteria	Case	Start	After 24 h	Reduction of bacteria (%)
<i>S. aureus</i>	Blank	1.2×10^5	5.8×10^6	—
	Ag- SiO_2	1.2×10^5	< 10	99.9
<i>E. coli</i>	Blank	1.5×10^5	6.5×10^6	—
	Ag- SiO_2	1.5×10^5	< 10	99.9

Tableau I-4. Résultat du test antibactérien sur un dépôt composite sol-gel $\text{SiO}_2\text{-Ag}$ envers *S. aureus* et *E. coli* [73].

3.4.2. Cuivre

Le cuivre a été employé dans de nombreux produits commerciaux [119] et largement étudié [65, 74, 79, 80, 120-124]. Il est utilisé dans des produits fongiques [125] et des

peintures « anti-souillure » [126]. A l'époque de l'empire romain, des poêles contenant du cuivre permettaient de limiter le développement d'épidémies. Il présente une activité envers *Legionella* [127], *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus aureus* *meticillin resistant* (SARM) [80].

3.4.2.1. Mécanisme d'action du cuivre

Les ions cuivre (Cu^{2+}) pénètrent dans les bactéries selon les mêmes mécanismes que les ions argent (§ 3.4.1.1.) et inhibent la respiration bactérienne tout en bloquant la multiplication en agissant sur l'ADN [128].

3.4.2.2. Résistance des bactéries au cuivre

Le mécanisme de résistance des bactéries au cuivre est due aux plasmides et aux protéines [87, 128-130]. Selon l'espèce de bactérie, la protéine à l'origine de cette résistance est différente. Les ions Cu^{2+} pénètrent dans la bactérie et sont repoussés vers l'extérieur après l'organisation des plasmides dans le cytoplasme. Ces études ont été réalisées sur des bactéries planctoniques, mais dans notre environnement les bactéries vivent sous la forme de biofilms et dans ce cas les mécanismes de résistance peuvent être différents.

Gail *et al.* [131] ont étudié la capacité de la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* au cuivre sous forme planctonique et sous forme de biofilms (Figure I-19). Ces essais ont été conduits en solution dans un écoulement continu. Le biofilm a été fixé sur le support et nourri avec des sels « minimal salts vitamin pyruvate » (MSVP) de concentration $5,45 \times 10^{-2}$ M. Le test s'est déroulé pendant 5 h avant de mesurer le nombre de colonies restantes.

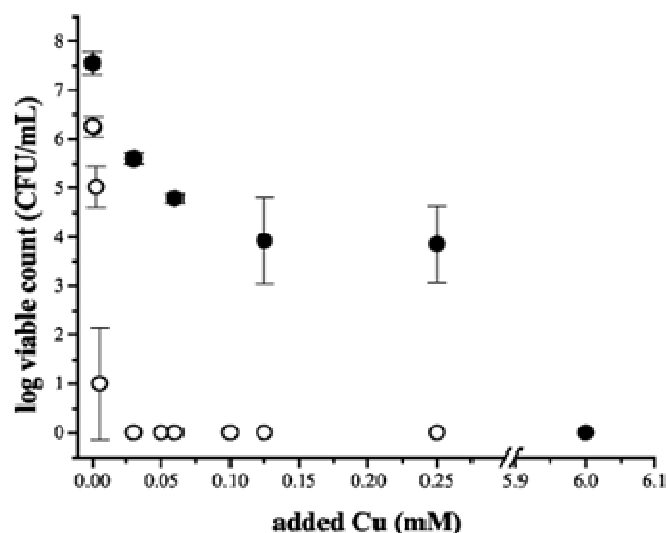


Figure I-19. Nombre de colonies de *Pseudomonas aeruginosa* viable en fonction de la concentration de Cu à 37 °C après 5 h : (●) bactéries en biofilm, (○) bactéries sous forme planctoniques [131].

Il faut une solution 240 fois plus concentrée en Cu (0,025 à 6 mM) pour éliminer 7 log de bactéries sous forme de biofilm par rapport à la forme planctonique. Comme nous allons le voir dans la partie sur les biofilms, la capacité de résister aux agents antimicrobiens est plus importante lorsque les bactéries sont présentes sous forme de biofilms.

3.4.2.3. Activité antibactérienne du cuivre sous forme métallique

L'application du cuivre dans le domaine antibactérien est très vaste [65, 78-80, 82, 120-122, 124, 132-134]. Nous ne rapporterons pas l'activité du cuivre massif ni de son alliage le plus connu qu'est le laiton, le lecteur pourra se reporter à l'article de Noyce *et al.* [80]. Les travaux présentés ci-après concernent essentiellement des dépôts contenant du cuivre.

Un exemple de dépôt composite est le dépôt multicouche TiN/Cu élaboré par pulvérisation cathodique magnétron [135]. La matrice TiN confère une haute dureté au dépôt et le cuivre la fonction antibactérienne. La figure I-20 montre l'image des échantillons en microscopie optique après les essais microbiologiques consistant à déposer une goutte d'une solution contenant *E. coli* suivi d'une incubation à 37 °C. Les échantillons sont ensuite rincés et les bactéries restantes sur la surface sont colorées pour un comptage sous microscope optique. Les bactéries (*E. coli*) sont uniformément distribuées sur la surface témoin (image de

gauche). Sur l'échantillon comportant du cuivre, le nombre de bactéries diminue de manière significative. Ce résultat démontre l'efficacité antibactérienne des films TiN/Cu. A la numération 90 % seulement des bactéries sont éliminées, indiquant que la surface n'est pas complètement bactéricide.

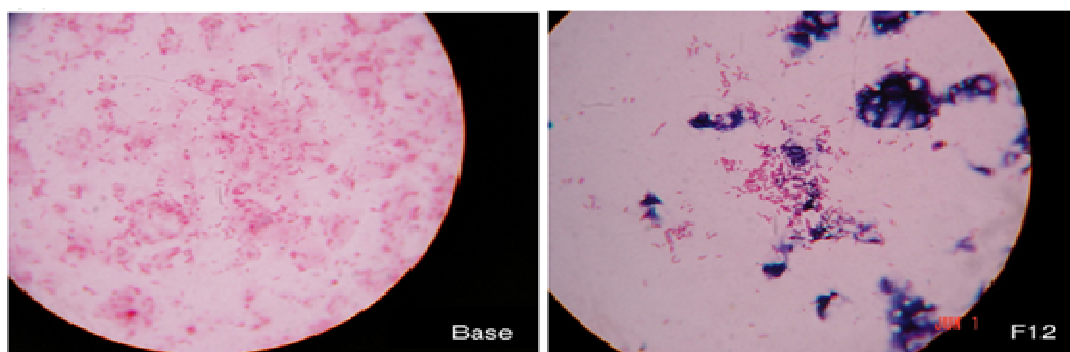


Figure I-20. Image de la surface d'échantillons après le test antibactérien avec *E. coli* : témoin (à gauche) et TiN-Cu (à droite) [135].

Yates *et al.* [136] ont élaboré des revêtements $\text{TiO}_2\text{-CuO}$. TiO_2 était déposé par APCVD et CuO par FACVD à partir respectivement de TTIP et de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$. Comme dans le cas des dépôts $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ [76, 137], ils ont mis au point des bicouches $\text{TiO}_2\text{-CuO}$. Ces dépôts TiO_2 (80 nm) sur CuO (61 nm) sont très actifs avec une réduction de 7 Log après 20 min d'irradiation à 365 nm sous un flux de $2,24 \text{ mW.cm}^{-2}$ (Figure I-21). En l'absence d'UV l'activité était seulement de 1 log après 80 min.

Ce résultat est à comparer avec ceux présentés à la figure I-18, en effet il s'agit de la même équipe et des mêmes essais. Ce dépôt bicouche semble plus efficace que celui de $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ sous UV.

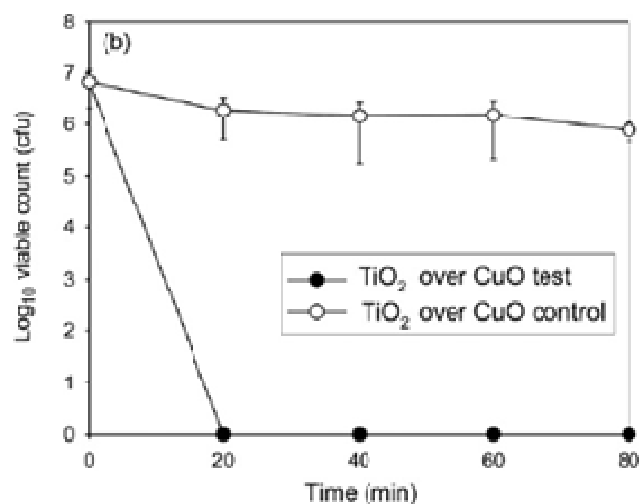


Figure I-21. Activité antibactérienne d'échantillons bicouches TiO₂ (80 nm)/CuO (61 nm) avec (●) et sans UV (○) [136].

4. Biofilms

Comme décrit précédemment, les bactéries ne vivent pas seules, elles se regroupent pour se développer sur une surface. Ce regroupement peut se faire avec d'autres micro-organismes et des produits organiques, sous la forme d'un « biofilm ».

J. William Costerton a proposé en 1978 le terme de biofilms en suggérant que la plupart des micro-organismes vivaient sous cette forme [138]. Depuis, les travaux scientifiques montrent que ces micro-organismes attachés sur une surface ont des caractéristiques et un comportement très spécifiques [139-143].

4.1. Qu'est ce qu'un biofilm ?

Un biofilm est une communauté de micro-organismes (bactéries, champignons, algues, ou protozoaires), adhérant entre eux et à une surface, et caractérisé par la sécrétion d'une matrice adhésive et protectrice. Sa structure est hétérogène, souvent sous forme d'une matrice extracellulaire, et composée de substances polymères (Figure I-22). Leur organisation et leur métabolisme dépendent de la nature de la surface et de l'environnement physico-chimique. Il existe des variations métaboliques importantes à l'intérieur du biofilm et à l'interface milieu liquide/milieu solide. Ils sont naturellement résistants aux antibiotiques et sont à l'origine de nombreuses infections chroniques [140]. Les biofilms intéressent tous les domaines de la

microbiologie et de la médecine (matériels d'exploration, matériels implantés, muqueuses lésées, etc.).

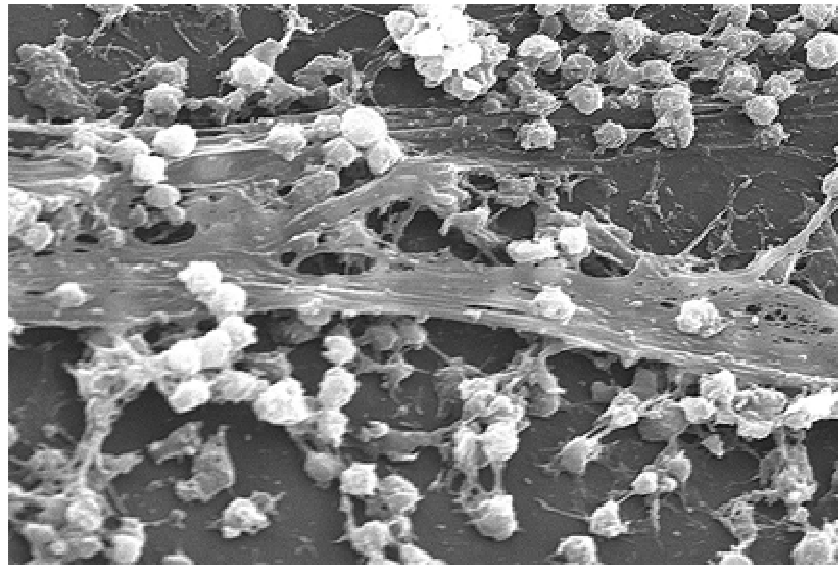


Figure I-22. Image MEB d'un biofilm (*S. aureus*) [144].

Le mode de vie en biofilm est l'un des deux modes de vie des organismes unicellulaires. Ce serait le mode de vie majeure de la plupart des micro-organismes, notamment attachés sur les surfaces [145]. L'autre mode de vie mineur est le type dit « planctonique » principalement dans les fluides (air et eau).

Les biofilms peuvent se développer sur n'importe quel type de surface naturelle (cellulaire, séquestre,...) ou artificielle (prothèse, sonde, cathéter, plastique...) mais aussi sur des tissus vivants comme par exemple sur les dents ou l'endocarde donnant alors des endocardites. Certaines maladies sont dues à la formation de biofilms, des exemples étant présentés dans le tableau I-5 [146].

Dental caries	Acidogenic Gram-positive cocci (e.g., <i>Streptococcus</i>)
Periodontitis	Gram-negative anaerobic oral bacteria
Otitis media	Nontypable strains of <i>Haemophilus influenzae</i>
Musculoskeletal infections	Gram-positive cocci (e.g., staphylococci)
Necrotizing fasciitis	Group A streptococci
Biliary tract infection	Enteric bacteria (e.g., <i>Escherichia coli</i>)
Osteomyelitis	Various bacterial and fungal species—often mixed
Bacterial prostatitis	<i>E. coli</i> and other Gram-negative bacteria
Native valve endocarditis	Viridans group streptococci
Cystic fibrosis pneumonia	<i>P. aeruginosa</i> and <i>Burkholderia cepacia</i>
Meloidosis	<i>Pseudomonas pseudomallei</i>
Nosocomial infections	
ICU pneumonia	Gram-negative rods
Sutures	<i>Staphylococcus epidermidis</i> and <i>S. aureus</i>
Exit sites	<i>S. epidermidis</i> and <i>S. aureus</i>
Arteriovenous shunts	<i>S. epidermidis</i> and <i>S. aureus</i>
Scleral buckles	Gram-positive cocci
Contact lens	<i>P. aeruginosa</i> and Gram-positive cocci
Urinary catheter cystitis	<i>E. coli</i> and other Gram-negative rods
Peritoneal dialysis (CAPD) peritonitis	A variety of bacteria and fungi
IUDs	<i>Actinomyces israelii</i> and many others
Endotracheal tubes	A variety of bacteria and fungi
Hickman catheters	<i>S. epidermidis</i> and <i>C. albicans</i>
Central venous catheters	<i>S. epidermidis</i> and others
Mechanical heart valves	<i>S. aureus</i> and <i>S. epidermidis</i>
Vascular grafts	Gram-positive cocci
Biliary stent blockage	A variety of enteric bacteria and fungi
Orthopedic devices	<i>S. aureus</i> and <i>S. epidermidis</i>
Penile prostheses	<i>S. aureus</i> and <i>S. epidermidis</i>

Tableau I-5. Exemples d'infections de l'homme provoquées par un biofilm d'après [146].

La matrice du biofilm est constituée de polysaccharides de substances organiques et d'eau. Un aspect majeur des biofilms est le changement dans les phénotypes correspondant au changement du mode de vie «planctonique et individuel» à celui de «fixé et communautaire». Des groupes de gènes changent leurs mécanismes d'activation pour assurer cette permutation de style de vie (en quelques minutes) [140]. L'environnement particulier du biofilm permet aux bactéries de se regrouper pour se développer ce qui n'est pas le cas dans un environnement libre. Le comportement des bactéries vivant dans un biofilm est très différent de celui des bactéries planctoniques de la même espèce [147]. Un domaine très concerné par les biofilms est le réseau d'eau potable mais aussi les infections nosocomiales par l'émission de bactéries pathogènes.

4.2. Cycle de vie d'un biofilm

Le biofilm est une de structure organisée [140]. Un modèle simple en trois étapes (Figure I-23) propose son mode de développement sur une surface.

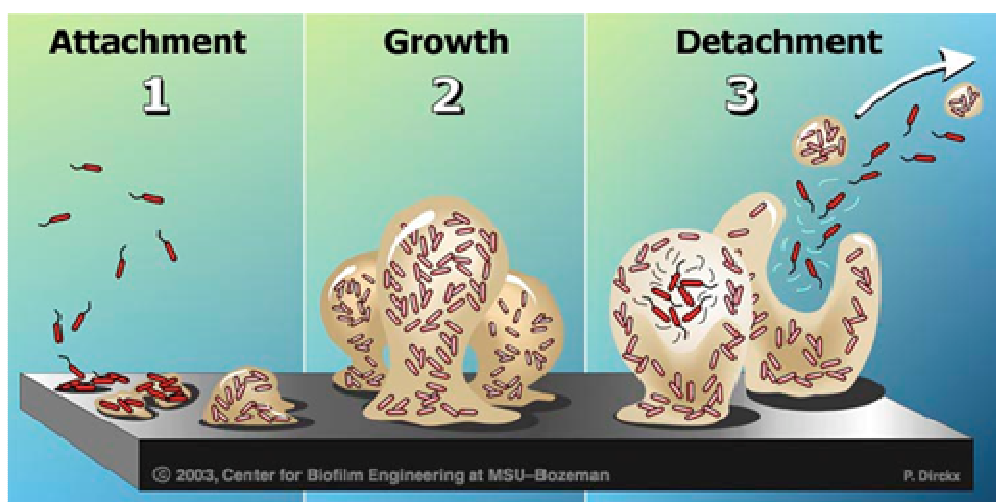


Figure I-23. Modèle en trois étapes de la vie d'un biofilm [148].

1. **Etape d'adhésion** : la première étape est l'adhésion réversible de micro-organismes mobiles sur une surface, principalement par des liaisons chimiques non covalentes et faibles. Ces liaisons entre la bactérie et la surface sont de type Van der Waals, électrostatique, ou encore acide base de Lewis. Dans cette étape, la bactérie peut repartir de la surface. Ensuite, l'adhésion irréversible se produit par la formation de ligands (molécules protéiques) et/ou à partir des pili avec la surface. Ces premiers points d'accroche augmentent la capacité d'adhésion d'autres micro-organismes en accroissant la probabilité de fixation. Certaines espèces ne sont pas capables d'adhérer elles-mêmes et s'intègrent à d'autres espèces déjà installées en biofilm : sa diversité de nature et de structure explique le large spectre de propriétés (Figure I-23, image de gauche).
2. **Etape de croissance** : les micro-organismes se reproduisent en se divisant et en formant ainsi des microcolonies. À partir d'une concentration suffisamment dense d'individus, les microcolonies commencent la sécrétion du biofilm proprement dit (Figure I-23, image centrale). Les conditions environnementales (température, humidité, nature de la surface) influence la vitesse de cette étape (Annexe 1).
3. **Etape de maturation** : le biofilm continue à se développer, s'épaississant jusqu'à devenir macroscopique. Le vieillissement du biofilm va générer un certain stress ou carence qui va entraîner une phase de dispersion, dite phase planctonique. Les micro-organismes peuvent alors se séparer du biofilm, parfois en consommant la matrice qui

représente une source d'énergie. Ces micro-organismes retournent à l'état dit "planctonique" de libre circulation et peuvent aller coloniser de nouvelles surfaces, complétant ainsi le cycle. Dans le mode de vie du biofilm et selon ce modèle en trois étapes, la phase "planctonique" peut alors être vue comme une phase de dispersion (Figure I-23, image de droite).

4.3. Facteur de croissance

D'après plusieurs études [143, 149-156], les caractères physiques et chimiques de l'environnement influencent la croissance des biofilms. Beaucoup d'entre eux sont étudiés pour comprendre leurs rôles. Quelques paramètres importants sont reportés ci-après.

4.3.1. Nature de la surface

La surface en elle-même a peu ou pas d'effet sur le développement des biofilms. Mayette *et al.* ont montré que les micro-organismes adhèrent de façon assez similaire sur de l'acier inoxydable et divers matériaux plastiques comme le téflon, le PVC et le PVDF [157].

Apilanez *et al.* [158] ont étudié le développement de biofilms avec plusieurs types de surfaces comme le verre, la terre, le sable et le charbon actif. Ils ont utilisé de la boue de station d'épuration comme source de micro-organismes. Le poids sec est le paramètre qui représente la quantité de biofilm. Quelque soit le support, il n'y a pas vraiment de différence, notamment pendant la première phase d'adhésion (Figure I-24).

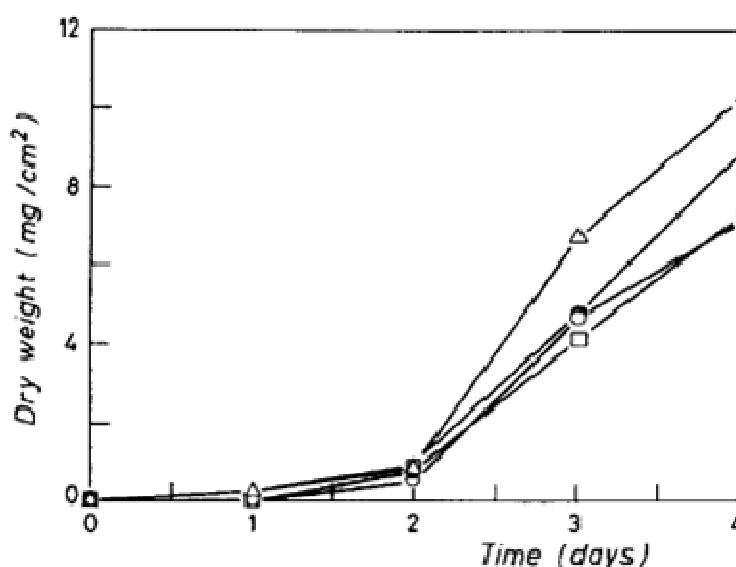


Figure I-24. Poids sec des biofilms par cm^2 et en fonction du temps sur les différents matériaux testés : (○) verre, (□) terre, (Δ) charbon actif, (●) sable [158].

Tous les travaux montrent qu'il n'existe pas un matériau idéal pour éviter l'adhésion des bactéries et le développement des biofilms. Par contre, les caractéristiques des surfaces solides peuvent modifier la cinétique de formation du biofilm comme la topographie, la stabilité thermodynamique (énergie de surface) et la composition chimique.

4.3.2. Rugosité de surface

Bien que les surfaces polies retardent la croissance initiale des bactéries, la faible rugosité ne semble pas modifier de manière significative le biofilm qui se développera sur celles-ci. Meltzer a montré qu'aucune rugosité de surface n'empêche pas la formation d'un biofilm [159]. Selon Vanhaecke *et al.*, la rugosité semble influencer le taux d'attachement mais seulement dans l'étape initiale d'adhésion [49]. Cette conclusion est basée sur la recherche sur l'étude d'adhésion de *Pseudomonas* sur de l'acier inoxydable 316L (Figure I-25).

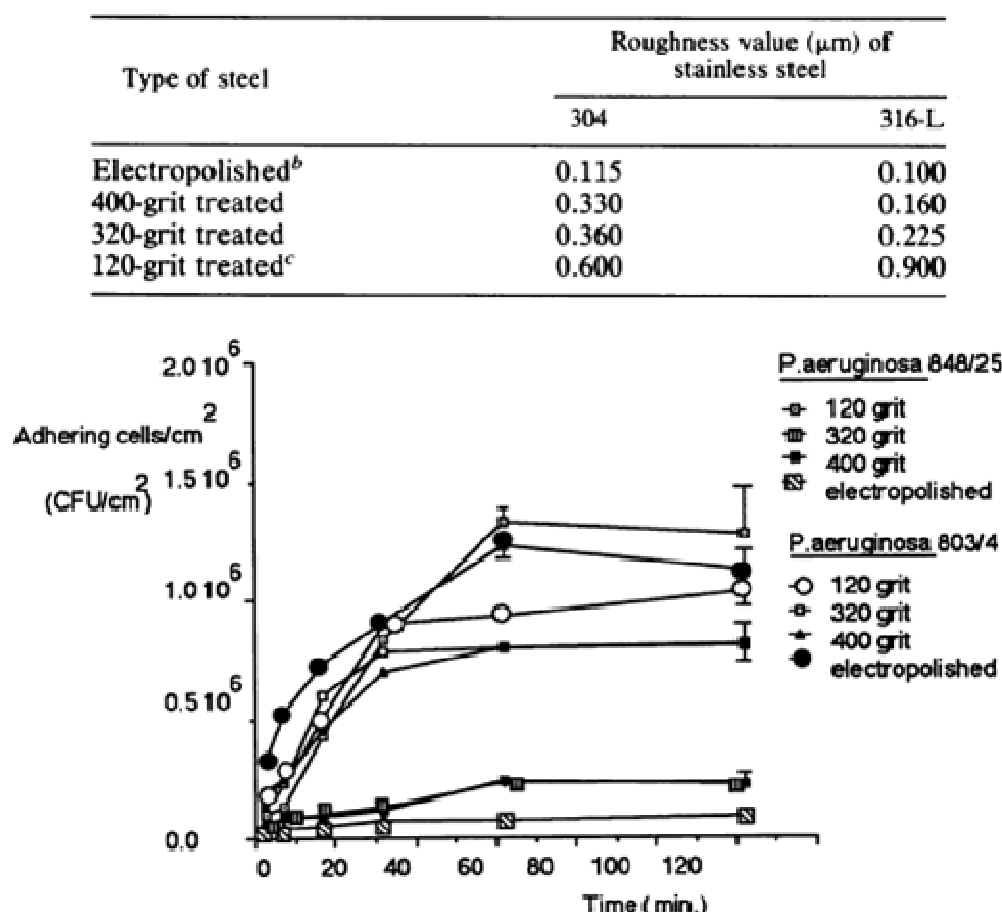


Figure I-25. Cinétique d'adhésion du *P. aeruginosa* souche 848/25 et 803/4 sur l'acier inox 316L. L'échantillon 120-grit est le plus rugueux et celui électropoli l'est le moins. Les rugosités sont données dans le tableau inséré en haut de la figure [49].

Les surfaces polies présentent un taux initial d'adhésion plus faible que sur les surfaces rugueuses [38, 46, 47, 160]. La formation d'un biofilm après une période de temps plus ou moins longue est donc inévitable. Hengtrakool *et al.* confirment ces résultats en étudiant la formation d'un biofilm avec *S. sanguis* NCTC 10904 sur un composite silice polymère « glass ionomer cement (GIC) » présentant des rugosités différentes [161].

4.3.3. Eléments nutritifs

Les bactéries exigent des éléments nutritifs pour leur croissance et leur reproduction. La raréfaction de ces aliments limitera leur croissance mais « les niveaux nutritifs » nécessaires sont très faibles.

Ainsi, Melo *et al.* [162] ont étudié la formation d'un biofilm de *Pseudomonas fluorescens* avec une solution nutritive pendant 10 jours. Ensuite l'évolution de la masse du biofilm est suivie après le retrait de la solution nutritive. Ils constatent que la masse du biofilm chute significativement dès la suppression des nutriments (Figure I-26). Malgré cette forte diminution en l'absence de nutriment le biofilm reste présent : ce mécanisme de survie est une de leurs caractéristiques importantes.

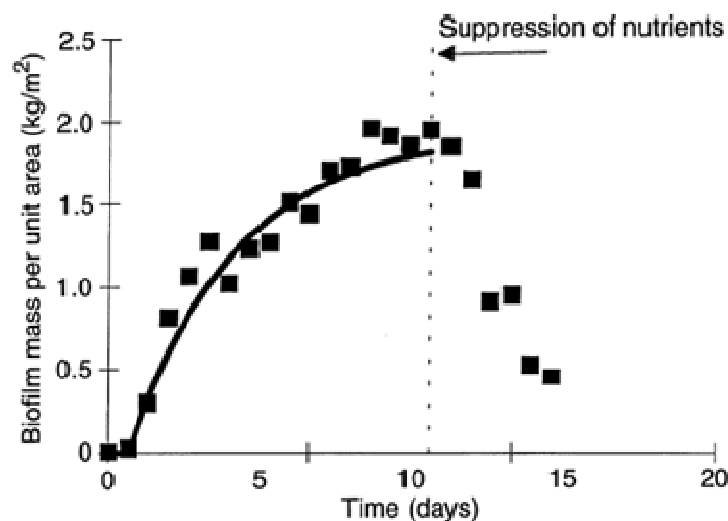


Figure I-26. Effet de la suppression des nutriments [162].

Même dans des environnements très propres, la faible quantité de nutriment est suffisante pour permettre la croissance et la reproduction microbienne [163]. Selon Flemming & Geesey [164], les bactéries peuvent aussi obtenir leurs nutriments du substrat lui-même

(canalisations d'un circuit de refroidissement par exemple). La plupart des plastiques ne sont pas biodégradables, mais les composés organiques incorporés pendant l'étape d'élaboration ou des produits issus de leur vieillissement peuvent constituer une source de carbone pour les bactéries. Les membranes celluloses des bactéries peuvent également représenter une source nutritive. En outre, elles peuvent se nourrir d'éléments métalliques issus d'acier ou d'autres composants métalliques. Les bactéries se trouvent ainsi souvent impliquées dans les mécanismes de corrosion [165-168].

4.3.4. Vitesse d'écoulement

Dans le cas des surfaces en contact avec de l'eau, la vitesse d'écoulement change la croissance d'un biofilm. Le développement des biofilms (*Pseudomonas fluorescens*) est illustré sur la figure I-27. Les trois courbes correspondent à la formation d'un biofilm pour différentes vitesses d'écoulement d'eau contenant la même concentration en substance nutritive (20 ppm : glucose 0,5 %, peptone 0,25 % et extrait de levure 0,125 %). Pour les vitesses les plus élevées la masse de biofilm est inférieure. L'épaisseur moyenne stabilisée (phase stationnaire de croissance) des biofilms varie entre 1,29 mm (0,34 m/s) et 0,46 mm (0,72 m/s) à la phase stationnaire (Annexe 1) [162].

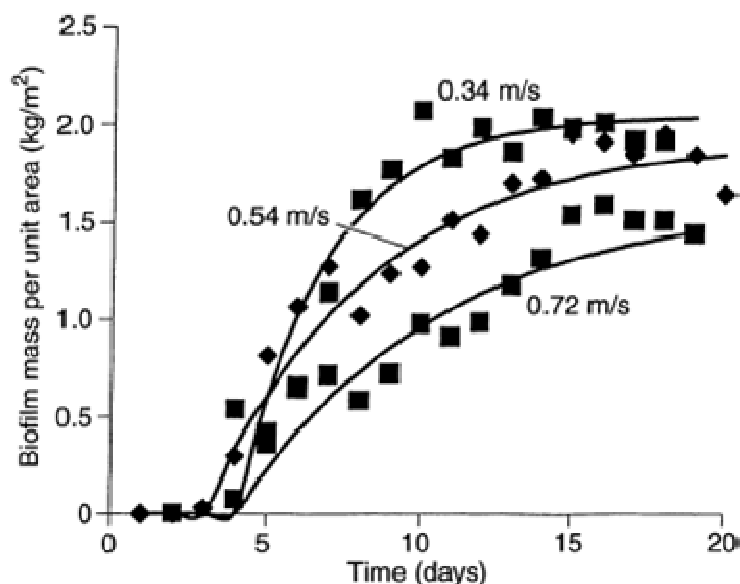


Figure I-27. Formation des biofilms avec la variation de la vitesse d'écoulement (substance nutritive constante (20 ppm : glucose 0,5 %, peptone 0,25 % et extrait de levure 0,125 %) [162].

Perni *et al.* [169] ont étudié le potentiel d'adhésion des biofilms (*Listeria innocua*) dans un régime d'écoulement turbulent (nombre de Reynolds : $9500 < Re < 16500$) pendant 7 jours dans un système continu avec un tube d'inox AISI 304 (rugosité $Ra = 1,7 \mu m$).

L. innocua a colonisé significativement la surface pour un nombre de Reynolds de 9500 après seulement 1 jour (Figure I-28a). Pour un Re plus élevé (Figure I-28b), une grande partie de la surface n'est pas colonisée par des cellules. Après 7 jours, la surface colonisée a nettement augmenté dans les deux cas mais reste plus importante pour un Re plus faible. En conclusion, la vitesse d'écoulement affecte la cinétique de développement mais n'empêchera pas l'adhésion des bactéries et la formation du biofilm [170-172].

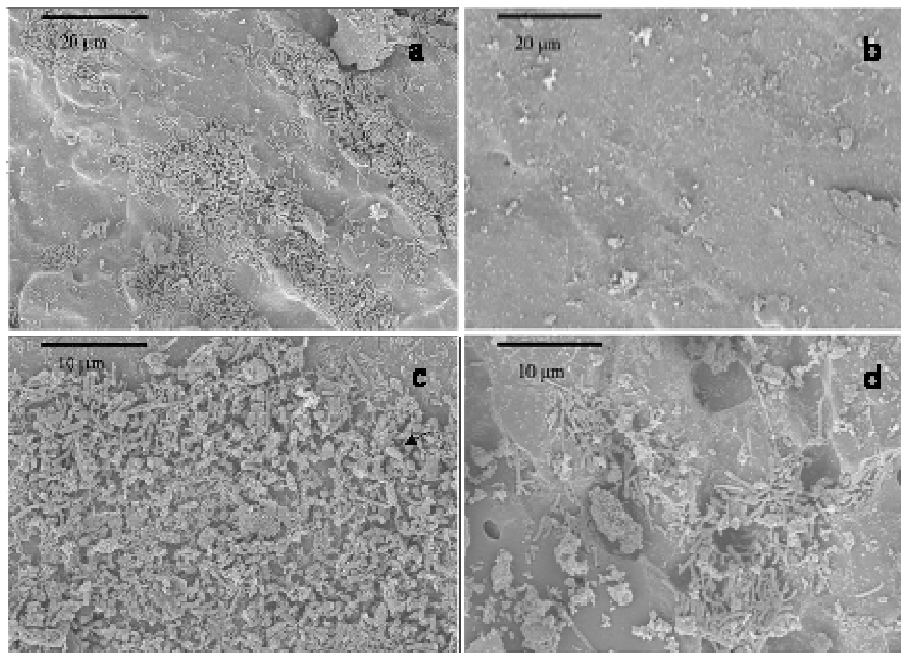


Figure I-28. Images MEB d'un biofilm sur la surface d'un échantillon d'inox 304 placé dans un écoulement turbulent en fonction du nombre de Reynolds : a) $Re = 9500$ (j+1), b) $Re = 16500$ (j+1), c) $Re = 9500$ (j+7) et d) $Re = 16500$ (j+7) [169].

4.4. Mécanisme de protection d'un biofilm

Selon Costerton *et al.* [145], un biofilm se protège de l'environnement extérieur selon 3 mécanismes différents. Ils ont étudié la capacité de résistance aux agents antibactériens et proposé les mécanismes ci-après [142, 152, 169, 173-176] :

Le premier mécanisme concerne la protection du biofilm de l'extérieur avec sa couche biologique. Des substances polymériques en surface empêchent la pénétration des agents antibactériens et antibiotiques [146]. Costerton *et al.* [145] confirment l'effet barrière de cette couche sur la pénétration des antibiotiques par diffusion.

Le deuxième mécanisme réduit la susceptibilité du biofilm aux antibiotiques :

- les bactéries dans un biofilm sont dans un état de croissance lent (réduction du métabolisme) et consomment une quantité limitée de nutriments donc cela diminue la probabilité de consommation des antibiotiques par les bactéries ;
- de plus, un large panel de bactéries (avec différents métabolismes) est présent dont certaines résistent mieux à l'antibiotique utilisé ;
- dans un biofilm, la résistance de *P. aeruginosa* aux antibiotiques est attribuée à des pompes d'effluve expulsant les composants antimicrobiens [146].

Le dernier mécanisme est la protection génétique : lorsque les bactéries sont dans un biofilm l'expression génétique des bactéries peut être modifiée. L'environnement du biofilm favorise les échanges de matériels génétiques et permet le transfert du « caractère » de résistance. Les antibiotiques ont une action symptomatique sur les infections liées aux biofilms car ils détruisent uniquement les bactéries planctoniques qui quittent le biofilm mais ils ne peuvent pas attaquer les bactéries dans le biofilm [145].

4.5. Modes de contaminations

Une fois que le biofilm atteint sa maturité, des bactéries peuvent le quitter sous forme planctonique pour aller contaminer une autre surface. Si elles sont pathogènes, elles peuvent être la source d'une contamination : c'est le cas par exemple des canalisations d'eau, du traitement d'air, du milieu hospitalier, de l'industrie alimentaire, etc. Les infections « classiques » sont dues à des bactéries planctoniques contre lesquelles les antibiotiques sont actifs alors qu'ils le sont beaucoup moins lorsqu'elles forment un biofilm.

4.6. Conclusion sur les biofilms

Le biofilm est à l'origine de nombreuses infections. Une stratégie pour empêcher la formation du biofilm est de désinfecter régulièrement les surfaces [177] avant la formation de

celui-ci. Cependant, la phase initiale de l'adhésion des micro-organismes sur une surface est un processus rapide. Le nettoyage d'une surface n'est pas la meilleure solution car ce n'est pas préventif. Le tableau I-6 montre les différents agents antibiofilm.

Biocide performance	Active ingredient
Best	Peroxo acids Iodophores Biguanides Chlorine Amphoteric
Worst	Quarternary ammonium compounds

Tableau I-6. Classement des agents biocides contre les bacteries des biofilms d'après Holah *et al.* [36].

Notre travail est axé sur la prévention du développement des microcolonies et du biofilm. Pour ce faire, nous nous sommes focalisés sur la production de surfaces antibactériennes.

5. Conclusion

L'étude de la bibliographie a permis de mieux cerner l'enjeu des surfaces antibactériennes et le développement de dépôts composites ou hybrides « matrice-élément antibactérien ». Mais de nombreux points ne sont pas résolus tels que la durabilité et l'activité dans un environnement représentatif de conditions réelles. D'autre part, la teneur minimum en élément antibactérien qu'il faut ajouter pour garantir une forte activité n'est pas toujours connue.

L'argent et le cuivre sont deux éléments reconnus pour leur efficacité. Le mécanisme d'action est bien décrit dans la littérature lorsque ces éléments sont sous forme d'ions (Ag^+ ou Cu^{2+}) mais il devient plus complexe lorsqu'ils sont sous forme métallique dans une matrice. Il faut aussi minimiser leur quantité pour éviter des problèmes de toxicité. Dans la littérature, les résultats sont difficilement comparables car beaucoup de laboratoires ont développé leurs propres tests d'activité antibactérienne.

Nous proposons de travailler sur le développement de films minces nanocomposites $\text{TiO}_2\text{-M}$ ($\text{M} = \text{Ag}, \text{Cu}$). Le procédé d'élaboration de la matrice de TiO_2 est connu et le laboratoire du CEA maîtrise parfaitement son élaboration. Un autre aspect avantageux est que le précurseur est bon marché, ceci dans l'optique d'une application industrielle. Il est peut-être aussi possible de combiner ses propriétés photocatalytiques à l'effet antibactérien de l'élément métallique. Dans un premier temps, nous devons maîtriser le procédé d'élaboration (CVD) et le relier aux propriétés physico-chimiques et structurales des films minces. Dans un deuxième temps, les propriétés antibactériennes sont évaluées en utilisant le test standard japonais puis en développant des tests plus représentatifs des mécanismes d'adhésion et de croissance en microcolonies.

Notre travail s'inscrit dans ce cadre en proposant le développement de revêtements antibactériens efficaces, durables et industrialisables. Le chapitre suivant va décrire les techniques expérimentales que nous avons utilisées pendant cette thèse.

Chapitre II : TECHNIQUES ET METHODES EXPERIMENTALES

1. Elaboration des dépôts.....	55
1.1. Préparation des substrats	55
1.2. Précurseurs et gaz employés.....	55
1.3. Procédé d'élaboration des dépôts : DLI-MOCVD.....	58
1.4. Paramètres de dépôt	61
2. Caractérisation physico-chimique et structurale des dépôts.....	62
2.1. Diffraction des rayons X.....	62
2.2. Microscope électronique à balayage	63
2.3. Energy dispersive X-ray spectroscopy.....	64
2.4. Microscopie électronique en transmission.....	64
2.5. Spectroscopie des photoelectrons induits par RX.....	64
2.6. Spectrométrie de masse à ionisation secondaire	65
2.7. Propriétés optiques : spectrophotométrie UV/Vis/NIR.....	66
2.8. Angle de contact.....	67
3. Activité antibactérienne des dépôts	68
3.1. Test du film contact : norme japonaise JIS Z 2801.....	68
3.1.1. Principe	68
3.1.2. Protocole	68
3.1.3. Détermination de l'activité antibactérienne.....	70
Activité « normalisée ».....	71
3.2. Test dépôt antibactérien de Weight, Haldar and Klivanov : aérosol de bactéries	71
3.2.1. Principe	71
3.2.2. Protocole	72
3.2.3. Interprétation	72
3.3. Test du brumisateuse	73
3.3.1. Principe	73
3.3.2. Protocole	73
3.3.3. Interprétation.....	74
3.4. Test de diffusion des principes actifs.....	74
3.4.1. Principe	75
3.4.2. Protocole	75
3.4.3. Détermination la largeur de la zone d'inhibition et interprétation.....	75
4. Propriétés photocatalytiques.....	76
4.1. Principe.....	76
4.2. Protocole.....	76
4.3. Interprétation	77

Ce chapitre présente le procédé de dépôt DLI-MOCVD utilisé, ses avantages et ses inconvénients, les précurseurs moléculaires sélectionnés et les paramètres d'élaboration. Cette partie est suivie d'une description des techniques de caractérisation physico-chimiques et structurales des films. Ensuite, nous détaillons les techniques d'évaluation de l'activité antibactérienne et photocatalytique de nos couches minces, soit à partir de normes, soit de tests spécifiquement développés.

1. Elaboration des dépôts

1.1. Préparation des substrats

Trois types de substrats différents ont été utilisés : des plaquettes d'inox 316L, du silicium Si(100) et du verre. L'activité antibactérienne a été évaluée avec les substrats inox car ces échantillons sont plus représentatifs d'une application. Les caractérisations physico-chimiques et structurales ont été réalisées sur les plaquettes en silicium. Enfin le verre a permis de mettre en évidence les propriétés optiques (transmittance et réflectance) et les propriétés antibactériennes de nos dépôts à partir de tests spécifiques : test de Weight, Haldar et Klibanov (§ 3.2.) et test du Brumisateur (§ 3.3) explicités plus loin.

Les substrats ont été nettoyés dans un bac à ultrasons dans de l'acétone pendant 15 minutes et rincés à l'éthanol. Ils ont ensuite été séchés sous air comprimé sec.

1.2. Précurseurs et gaz employés

Le tableau II-1 présente les différents précurseurs organométalliques que nous avons utilisés. Ils demandent certaines précautions d'emploi. Par exemple, le précurseur de titane est très sensible à l'humidité. La mise en conteneur des solutions doit être rigoureuse ; elle a été réalisée dans une boîte à gants sous azote sec.

Précurseur	Formule	Acronyme	Densité	Masse molaire (g.mol ⁻¹)	Température de décomposition (°C)	Etat physique (conditions normales)	Point de fusion (°C)
Tetra- <i>iso</i> -propoxide de titane	C ₁₂ H ₂₈ O ₄ Ti	TTIP	0.955	284.3	300- 1000 [178]	Liquide	20
Pivalate d'argent	C ₄ H ₉ COOAg	Piv-Ag	-	206.9	250-510[179]	Solide	230-250
Bis(tetramethyl heptadionate) de cuivre	(C ₁₁ H ₁₉ O ₂) ₂ Cu	Cu(TMHD) ₂	-	430.1	> 315 [180, 181]	Solide	198

Tableau II-1. Principales propriétés des précurseurs moléculaires utilisés.

Le précurseur de titane est le tétra-*iso*-propoxyde de titane, couramment appelé TTIP dont la structure est montrée sur la Figure II-1. C'est un composé fréquemment utilisé dans les procédés CVD et donc bien connu. Il a été retenu pour sa bonne stabilité en l'absence d'humidité et son faible coût (important pour une application industrielle). Théoriquement, il ne nécessite pas de source supplémentaire d'oxygène pour la formation du dioxyde de titane.

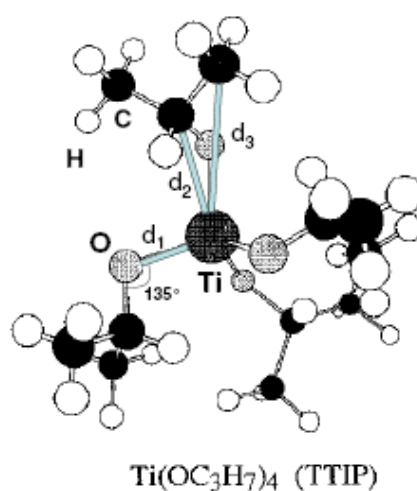


Figure II-1. Structure cristallographique du TTIP d'après Taylor *et al.* [182]. Les distances interatomiques d1, d2 et d3 sont égales respectivement à 1,76, 2,95 et 3,3 Å et l'angle Ti-O-C à 135,2 °.

Les sources d'agent antibactérien retenues sont le bis(tétraméthyl heptadionate) de cuivre [Cu(TMHD)₂] et le pivalate d'argent [Piv-Ag]. Ces précurseurs ont été choisis en raison de l'absence d'halogénures (fluor, chlore), de la compatibilité de leur température de décomposition thermique avec la source classique du TiO₂ qu'est le TTIP, de la solubilité dans des solvants appropriés à la technologie d'injection DLI, de leur disponibilité et leur faible dangerosité.

Chaque précurseur est soit dilué, soit dissout dans un solvant (ou un mélange de solvants). Les solvants sont présentés dans le tableau II-2.

Solvant	Précurseur	Formule	Pureté (%)	Masse molaire (g.mol ⁻¹)	T _{eb} (°C)	Viscosité (mPa.s)	T point éclair (°C)	μ (Debye)	TS (mN/m)	Densité (à 25°C)
Xylène [183]	TTIP Cu(TMHD) ₂	(CH ₃) ₂ C ₆ H ₄	97	106,17	138.5	0.62	27			0,869
Mésitylène [184]	Piv-Ag	C ₉ H ₁₂	98	120,2	163.0	0.74	50[185]	0	25.55	0,865
Dipropylamine (DIPA) [186]	Piv-Ag	((CH ₃) ₂ CH) ₂ NH	99	101,19	48.0		-6			0,722

Tableau II-2. Liste des solvants utilisés et de leurs principales propriétés (T_{eb} = point de d'ébullition, μ = moment dipolaire, TS = tension superficielle).

Le TTIP et le Cu(TMHD)₂ sont respectivement dilués et dissouts dans le même solvant, le xylène. La dilution du TTIP dans le xylène présente deux avantages en permettant : (i) de diminuer sa sensibilité à l'humidité et donc d'éviter le bouchage des injecteurs et (ii) une injection plus continue, c'est-à-dire une fréquence d'injection plus élevée conduisant à une fraction molaire équivalente plus grande et donc vraisemblablement à une vitesse de dépôt accrue. Le pivalate d'argent se dissout dans un mélange de mésitylène et dipropylamine dans la proportion 90:10 en volume. Les concentrations de chaque solution de précurseurs que nous avons utilisés sont données dans le tableau II-3.

Précurseur	Concentration utilisée (mol.L ⁻¹)	Solvants
TTIP	1	Xylène
Piv-Ag	0,1 ; 0,15	Mésitylène (90 %) Dipropylamine (10 %)
Cu(TMHD) ₂	0,005 à 0,1	Xylène

Tableau II-3. Concentrations des solutions de réactifs utilisés.

Il est possible de préparer une solution de xylène contenant un mélange de TTIP et Cu(TMHD)_2 dans un seul container ; quelques essais de dépôts seront présentés dans le chapitre 4 suivant ce protocole mais pour les autres expériences des containers séparés ont été utilisés. Après injection et vaporisation flash, les précurseurs étaient transportés vers les substrats *via* un mélange gazeux (gaz vecteurs et gaz réactifs). Pour nos essais, le mélange gazeux était le suivant (Tableau II-4).

Gaz vecteur	Masse molaire (g.mol^{-1})	Débit injecté (sccm)
N_2	28	324
O_2	32	36

Tableau II-4. Gaz vecteurs employés pour le procédé DLI-MOCVD.

Dans notre cas, l'azote se comportait comme un gaz neutre tandis que l'oxygène était un réactif permettant de réduire la contamination en carbone dans les couches susceptible de provenir des ligands des précurseurs métallo-organiques et surtout du solvant.

1.3. Procédé d'élaboration des dépôts : DLI-MOCVD

Les dépôts antibactériens ont été réalisés par un procédé de dépôt chimique en phase vapeur avec injection liquide, DLI-MOCVD (« Direct Liquid Injection-Metal Organic Chemical Vapor Deposition »). Ce procédé permet d'élaborer des dépôts à partir de précurseurs injectés sous forme liquide dans un réacteur sous atmosphère contrôlée. Les précurseurs sont dissouts dans un solvant lorsqu'ils sont sous forme solide. Quand les précurseurs sont liquides, ils peuvent être dilués ou non dans un solvant avant injection. Les dépôts peuvent être menés sous pression atmosphérique ou sous pression réduite. Le système est composé de trois parties (Figure II-2).

i. Zone d'injection et évaporation

Cette zone comprend l'injection des précurseurs, des gaz vecteurs et/ou réactifs et l'évaporateur. Les solutions contenant les précurseurs étaient injectés sous forme de

fines gouttelettes *via* des injecteurs automobiles à essence dans une chambre d'évaporation. La quantité introduite était contrôlée par le temps et la fréquence d'ouverture des injecteurs. Notre système d'injection était composé de deux injecteurs : l'un pour le TTIP et l'autre pour l'agent antibactérien (Piv-Ag ou $\text{Cu}(\text{TMHD})_2$) (Figure II-2). Il se produit alors une évaporation flash des solvants et des précurseurs dans l'évaporateur. La température de l'évaporateur doit être suffisante pour engendrer cette évaporation mais inférieure à la température de décomposition des précurseurs. Les gaz vecteurs et réactifs, qui étaient introduits au voisinage de la zone d'injection, véhiculent les précurseurs en phase gazeuse vers la zone réactionnelle.

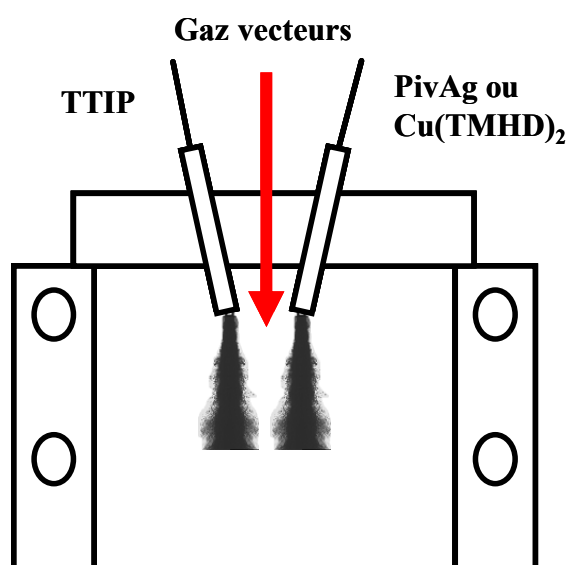


Figure II-2. Schéma montrant la géométrie d'injection des solutions contenant les précurseurs dans l'évaporateur.

ii. Zone réactionnelle

Elle était constituée de :

- la zone de dépôt avec un porte substrat chauffant de 300 mm de diamètre ;
- parois chauffantes afin d'éviter toute condensation des précurseurs ;
- une douchette contrôlée en température qui permettait une répartition homogène de la phase gazeuse sur la surface du porte substrat.

Le dépôt se formait par décomposition thermique des précurseurs en surface. Entre l'injection des précurseurs et le porte substrat, le gradient de température devait rester positif. Dans notre étude, la température du porte substrat a varié de 350 à 450 °C.

iii. Zone de pompage

Cette zone était constituée du système de contrôle de la pression (vanne et jauge baratron) du réacteur et de l'évacuation des gaz.

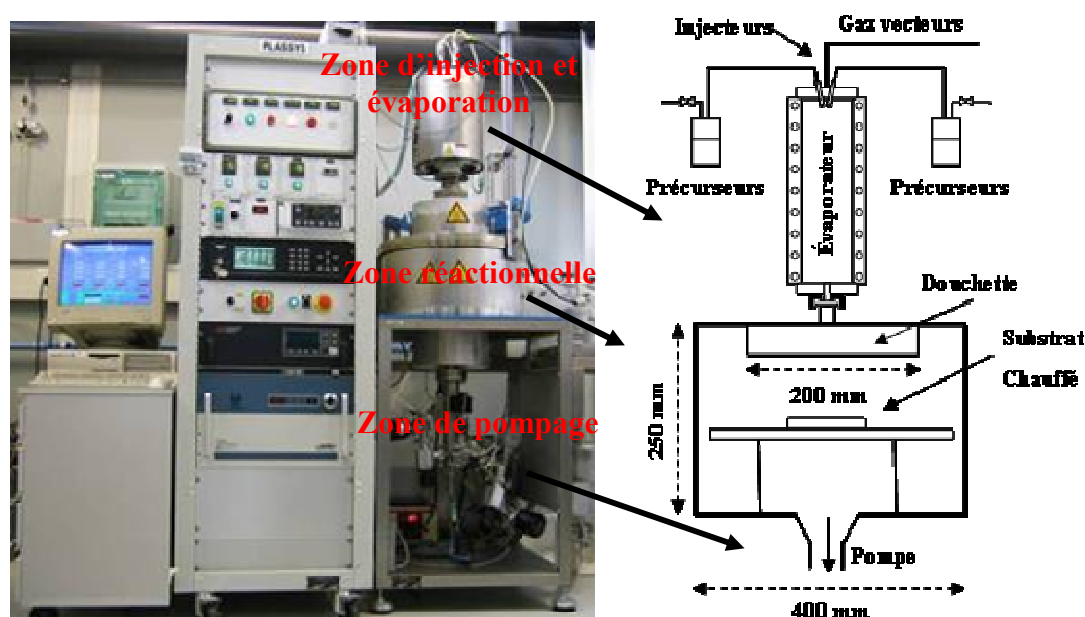


Figure II-3. Photo du réacteur DLI-MOCVD et schéma de principe.

Les principaux avantages de ce procédé de dépôt sont les suivants :

- i. un bon contrôle de la quantité des précurseurs injectés et donc de la fraction molaire de chaque précurseur dans le réacteur ;
- ii. la possibilité d'utiliser des précurseurs à faible pression de vapeur ou qui présentent une forte viscosité pour les liquides ;
- iii. l'obtention de vitesses de croissance élevées ;
- iv. le maintien à température ambiante de la solution de précurseur avant l'injection dans le réacteur ce qui évite toute dégradation préalable de ceux-ci ;
- v. une bonne reproductibilité ;
- vi. la possibilité de déposer sur des substrats de forme complexe et/ou poreux ;
- vii. une température de dépôt relativement basse ($< 450\text{ °C}$).

Mais il présente aussi quelques inconvénients qui sont :

- i. un surcoût par l'utilisation du système d'injection liquide ;
- ii. l'utilisation de solvants (inflammables, toxiques), mais des pistes de travail sont actuellement en cours pour s'affranchir de ce problème ;
- iii. des substrats compatibles avec la température de dépôt qui reste encore contraignante car élevée.

1.4. Paramètres de dépôt

Le tableau II-5 présente les différents paramètres que nous avons utilisés pendant ce travail. Certains étaient maintenus constants comme par exemple la pression totale du procédé et la température de l'évaporateur. D'autres ont varié comme la fréquence d'injection des précurseurs et le débit des gaz dans le but d'étudier l'influence de ceux-ci sur la structure, la composition et les propriétés des dépôts.

Paramètres	Valeur
Pression absolue en amont des injecteurs (bar)	2
Pression dans le réacteur (Pa)	800
Température d'évaporateur (°C)	195
Température de la douche (°C)	200
Température de parois du réacteur (°C)	250
Température du porte substrat (°C)	350 à 450
Temps du préchauffage et de la stabilisation avant dépôt (min)	30 à 45
Temps de dépôt (min)	2 à 20
Temps de refroidissement (h)	2
Gaz vecteur : N ₂ (sccm)	324
Gaz vecteur : O ₂ (sccm)	36
Temps d'ouverture de l'injecteur (ms)	2
Fréquence d'injection de la solution contenant TTIP (Hz)	2
Fréquence d'injection de la solution contenant Piv-Ag (Hz)	1 à 6
Fréquence d'injection de la solution contenant Cu(TMHD) ₂ (Hz)	0,5 à 6

Tableau II-5. Paramètres d'élaboration DLI-CVD des dépôts TiO₂-M.

La pression totale a été choisie à 800 Pa (8 mbar) pour plusieurs raisons :

- à cette pression on s'affranchit de l'influence de la gravité [187] ;
- les dépôts présentent une meilleure homogénéité avec la douche distributrice de gaz utilisée (15 cm de diamètre contre 5 cm sans douche) ;
- la quantité de précurseur et de solvant injectée est beaucoup plus faible par rapport à une pression plus élevée.

Si la fréquence d'injection de la solution contenant le précurseur d'argent ou de cuivre est inférieure à 1 Hz les dépôts ne sont pas homogènes ; le flux de précurseur arrive vers la surface par « vague » successives. A l'inverse, si la fréquence est trop grande (> 6 Hz), les débits équivalents augmentent fortement et les dépôts ne sont plus homogènes. Ceci est dû à une modification des écoulements gazeux dans le réacteur et un effet de jets apparaît sur la surface des échantillons.

2. Caractérisation physico-chimique et structurale des dépôts

2.1. Diffraction des rayons X

La diffraction des rayons X permet d'identifier les phases cristallines qui sont présentes dans le matériau analysé, d'analyser des orientations préférentielles et de déterminer la taille moyenne des cristallites. Les analyses ont été effectuées sur un diffractomètre Brüker D8 Advance (montage θ - 2θ couplé) et Siemens D5000 (detector scan) avec un monochromateur en graphite qui enlève la raie $K\beta$. Le rayonnement incident est donné par la raie $K\alpha$ du cuivre ($\lambda = 1,54098 \text{ \AA}$). Avec une tension de 40 kV et un courant de 30 mA, la divergence du faisceau est d'environ $0,4^\circ$. L'épaisseur du faisceau est de l'ordre de 1 mm et sa largeur de l'ordre de 10 mm.

- i)* Sous incidence rasante, la source du faisceau reste fixe et l'angle d'incidence est de quelques degrés. Seul le détecteur se déplace et balaye le domaine angulaire désiré. L'angle d'incidence utilisé est de 1° . Le domaine de balayage

du détecteur est de 5 à 90° (angle Bragg). Cette configuration permet l'analyse de couches très minces car la profondeur analysée est moins importante que dans la configuration θ - θ et donc la contribution du dépôt au signal diffracté est plus importante.

- ii) En configuration θ - θ , l'échantillon est horizontal et immobile et ce sont le tube et le détecteur de rayons X qui se déplacent symétriquement par rapport à la normale à l'échantillon. Cette configuration permet non seulement de mesurer les angles de Bragg, mais également de mettre en évidence d'éventuelles orientations préférentielles et d'analyser quantitativement un mélange de phases.

Les diagrammes expérimentaux ont été traités avec le logiciel EVA. A partir des mesures en θ - θ , les tailles des cristallites « équivalente » dans les couches minces ont été déterminées à partir de la largeur à mi-hauteur d'un pic de diffraction donné, en appliquant la formule de Scherrer (Equation II-1) :

$L = \frac{0,9\lambda}{\Delta(2\theta)\cos\theta}$	Equation II-1.
--	-----------------------

avec,

L = Taille moyenne des cristallites en Å,

λ = Longueur d'onde de la raie excitatrice (1,54098 Å),

θ = Angle de Bragg correspondant à la position de la raie,

$\Delta(2\theta)$ = Largeur à mi-hauteur de la raie considérée.

2.2. Microscopie électronique à balayage

La microscopie électronique à balayage (MEB) est une technique de microscopie basée sur le principe des interactions électrons matière. Un faisceau d'électrons balaie la surface de l'échantillon à analyser qui, en réponse, réémet certains rayonnements (électrons secondaires, électrons rétrodiffusés, électrons Auger, RX). Différents détecteurs permettent d'analyser ces rayonnements pour reconstruire une image de la surface et déterminer la présence des éléments dans la zone analysée.

Les caractérisations morphologiques et microstructurales des couches minces $\text{TiO}_2\text{-M}$ ($\text{M} = \text{Ag}, \text{Cu}$) ont été réalisées avec un MEB-FEG (Field Emission Gun) en utilisant une tension d'accélération de 5 kV à l'aide d'un appareil Leo-1530. L'épaisseur des films de TiO_2 a été mesurée sur des échantillons préparés et observés en section transversale.

2.3. Energy dispersive X-ray spectroscopy

Le microscope électronique à balayage était équipé d'un analyseur à dispersion d'énergie des rayons X (EDS), modèle IMIX-PC EDS (PGT) à diode de germanium. Les conditions d'utilisation étaient les suivantes : 15 kV comme tension d'accélération pour 1,5 nA de courant de sonde, avec une distance de travail fixée à 19 mm. La distance de la platine qui pilotait les mouvements du porte échantillon dans l'axe z était constante à 21,2 mm, l'inclinaison était zéro, le grandissement $\times 15$ et la zone analysée de $4 \times 4 \text{ mm}^2$.

2.4. Microscopie électronique en transmission

Dans un microscope électronique en transmission (MET), un faisceau d'électron accéléré à plusieurs centaines de kV traverse un échantillon aminci ou de faibles épaisseurs (inférieure à 100 nm). L'interaction électron matière permet de visualiser le matériau analysé à fort grossissement et de déterminer la structure cristalline de chaque phase. Les analyses ont été réalisées avec un MET JEOL JEM 2010 équipé d'un canon thermo-électronique à cathode en hexaborure de Lanthane (LaB_6). Il fonctionnait sous une tension de 200 kV et était couplé à un détecteur EDX à très petite sonde qui permet de faire de la nano-analyse lors des observations.

2.5. Spectroscopie des photoelectrons induits par RX

Egalement connu sur le nom « Electron Spectroscopy for Chemical Analysis (ESCA) », il s'agit d'une technique d'analyse de surface (profondeur sondée de quelques nanomètres seulement) qui donne la composition des couches minces (sauf He et H) ainsi que des informations sur le degré d'oxydation ou l'environnement chimique des éléments présents. Elle est basée sur la mesure de l'énergie cinétique des électrons éjectés de la surface analysée suite à l'irradiation des rayons X. Les spectres XPS ont été enregistrés sur un

appareil VG ESCALB MK II muni d'une anticathode de Mg $K_{\alpha 1,2}$ (1253,6 eV). Préalablement à toute analyse, la surface de l'échantillon était généralement décapée par bombardement ionique (Ar^+). Les conditions de décapage (tension d'accélération 2 à 4 kV ; densité du courant 150 μA ; durée 5 à 10 min) étaient douces et conduisaient à une érosion faible qui éliminait la couche de contamination de surface due au passage à l'air des échantillons. Les spectres généraux ont été enregistrés entre 0 et 600 eV (en énergie de liaison).

2.6. Spectrométrie de masse à ionisation secondaire

D'après l'acronyme anglais signifiant « Secondary Ion Mass Spectrometry », les analyses SIMS ont été réalisées à l'aide d'un spectromètre Cameca IMS 4F6 (Service analyseur ionique, INSA Toulouse). L'impact des ions primaires (Cs^+ ou Cs^-), d'environ 10 keV d'énergie, provoque la pulvérisation de la surface et les atomes arrachés sont en partie ionisés au cours de ce processus d'éjection. Ces ions dits secondaires sont caractéristiques des éléments présents sur la surface de l'échantillon et sont analysés par spectrométrie de masse. Deux modes de fonctionnement sont alors possibles :

- le mode spectre de masse,
- le mode dynamique ou profil ; l'érosion permanente de la surface par le faisceau d'ions primaires permettant de suivre la répartition en profondeur des espèces ioniques identifiées précédemment.

La tension d'accélération des ions primaires était de 10 kV et celle des ions secondaires était positive ou négative de 4,5 kV. Les valeurs caractéristiques des paramètres d'analyse sont données dans le tableau II-6.

Espèces Analysées	Intensité du courant (nA)	Résolution	Aire décapée (μm^2)	Aire analysée (μm^2)
Ions positifs	50	300	150×150	8×8
Ions négatifs	50	300	150×150	8×8

Tableau II-6. Valeurs des paramètres utilisées lors des analyses SIMS.

2.7. Propriétés optiques : spectrophotométrie UV/Vis/NIR

La spectrophotométrie UV/Vis/NIR (Perkin Elmer Lambda 19) a été utilisée pour mesurer la transmittance (T) et la réflectance (R) des couches minces, à partir desquelles on peut déduire la porosité et l'épaisseur de la couche en utilisant la méthode de « double enveloppe ». Le spectrophotomètre a également été utilisé comme un colorimètre pour le suivi des réactions de photocatalyse en solution aqueuse (orange G). Son domaine d'analyse comprend des longueurs d'onde λ de 200 à 2500 nm.

Calcul des indices optiques (n, k), de l'épaisseur et de la porosité des films

La porosité (P) [188] a été déterminée par la formule de Lorentz-Lorentz (Equation II-2). Pour cela, il est nécessaire de connaître l'indice de réfraction n expérimental du film de TiO_2 qui, pour diverses raisons (porosité, composition allotropique notamment) est différent de celui de l'anatase massif ($N = 2,5$ à 450-500 nm). Dans notre cas, le dépôt n'était pas constitué que de TiO_2 puisqu'il contenait des nanoparticules d'argent qui représentaient une très faible quantité que nous avons considérée comme négligeable.

$1 - \frac{P}{100} = \left(\frac{n^2 - 1}{N^2 - 1} \right) \times \left(\frac{N^2 + 2}{n^2 + 2} \right)$	Equation II-2.
--	-----------------------

L'indice de réfraction des films se détermine par la méthode de la double enveloppe. Cette méthode exploite les spectres de transmittance des films déposés sur des supports transparents. Les formules sont les suivantes (Equations II-3 et II-4) :

$n = \left[N + (N^2 - n_s^2)^{1/2} \right]^{1/2}$	Equation II-3.
--	-----------------------

avec

$N = 2n_s \times \frac{T_{\max} - T_{\min}}{T_{\max} T_{\min}} + \frac{n_s^2 + 1}{2}$	Equation II-4.
---	-----------------------

où n_s est l'indice de réfraction du support de verre (1,49), T_{\max} et T_{\min} sont les transmittances maximale et minimale pour une même longueur d'onde.

L'épaisseur d de la couche peut être calculée à partir des minima et des maxima du spectre de transmittance en utilisant la relation suivante (Equation II-5) :

$d = \frac{M \lambda_1 \lambda_2}{2(\lambda_1 n(\lambda_2) - \lambda_2 n(\lambda_1))}$	Equation II-5.
--	-----------------------

où M est le nombre d'oscillations entre le minimum et le maximum choisi ($M = 1$ entre deux minima et maxima consécutifs), et λ_1 , λ_2 et $n(\lambda_1)$, $n(\lambda_2)$ les longueurs d'onde et les indices de réfraction correspondants (Figure II-5).

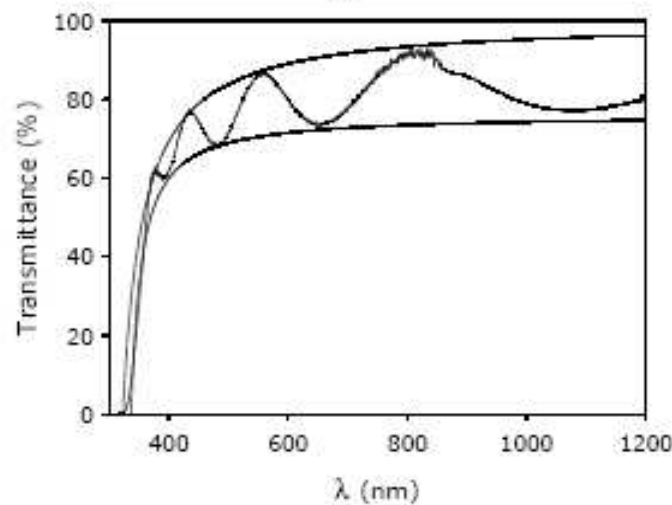


Figure II-5. Exemple de spectre expérimental de transmittance d'un film de TiO_2 et ses enveloppes maximales et minimales.

2.8. Angle de contact

La mesure de l'angle de contact ou angle de goutte donne l'aptitude d'un liquide à s'étaler sur une surface. La méthode consiste à mesurer l'angle de la tangente du profil d'une goutte d'eau ($5 \mu\text{l}$) au point triple déposée sur la surface du substrat. Elle permet de déterminer son caractère hydrophile ou hydrophobe et de calculer l'énergie de surface (Figure I-7). Nous avons appliqué cette méthode pour étudier la mouillabilité de nos échantillons.

3. Activité antibactérienne des dépôts

Le cœur de notre travail concerne l'optimisation des propriétés antibactériennes de nos couches minces en fonction des paramètres d'élaboration et des caractéristiques structurales des dépôts. Pour cela plusieurs tests antibactériens sont nécessaires. Des tests normés et des tests spécifiquement développés dans ce travail ont été utilisés. Ils sont décrits ci-dessous.

3.1. Test du film contact : norme japonaise JIS Z 2801

3.1.1. Principe

Le test normé JIS Z 2801 [189] du film contact, bien qu'il ne soit pas ISO, est largement utilisé dans la communauté scientifique. Ce test mesure l'activité bactéricide du dépôt. La méthode consiste à mettre en contact un inoculum bactérien standardisé avec la surface pendant un temps donné (entre 18 et 24 h). Après ce temps les bactéries sont dénombrées et comparées au nombre de bactéries sur l'échantillon témoin. Il faut souligner que l'incubation est réalisée dans une étuve en l'absence de lumière.

3.1.2. Protocole

Les conditions expérimentales de la norme JIS ont été sensiblement modifiées pour l'adapter à la taille de nos échantillons : nous testons des surfaces de 25 x 25 mm² au lieu de 50 x 50 mm², le nombre de bactéries contenues dans l'inoculum et alors divisé par 2. La figure II-6 présente le protocole de ce test.

La souche *S. aureus* (CIP 4.83) et *E coli* (CIP 54127) ont été utilisées. La suspension de bactéries contenait à 3×10^5 UFC.ml⁻¹ en utilisant le bouillon nutritif à 8,5 g de NaCl et 1 g de peptone. Deux cents µl d'une suspension de bactéries ont été déposés sur la surface traitée puis recouverts avec un film plastique stérile d'une dimension de 20 x 20 mm et placés dans une boîte de Petri. Les échantillons ont été ensuite placés à 37 °C pendant 18 à 24 h avec une humidité relative d'environ 90 %. Après l'étape d'incubation, les bactéries ont été récupérées par agitation dans une solution contenant un inhibiteur d'antibactériens appelé « diluant pharmacopée » puis différentes dilutions ont été faites (jusqu'à 10⁻⁴). Un millilitre de chaque dilution a été déposé dans des boîtes de Petri. Dix huit mL de gélose PCA (PCA = Plate Count Agar ; gélose nutritive : 5 g de peptone, 2,5 g d'extrait de levure, 1 g de dextrose et 15 g de gélose) ont été introduits dans chaque boîte dans le but de réaliser une numération en

milieu solide. La même procédure a été appliquée pour les témoins, incubés dans les mêmes conditions.

Il faut signaler que pour déterminer l'activité antibactérienne d'un dépôt, trois échantillons et trois témoins ont été testés, sachant que pour chaque échantillon il y avait cinq dilutions différentes répétées deux fois, ce qui représentait 60 boîtes de Petri et 4 jours d'essai (Figure II-6).

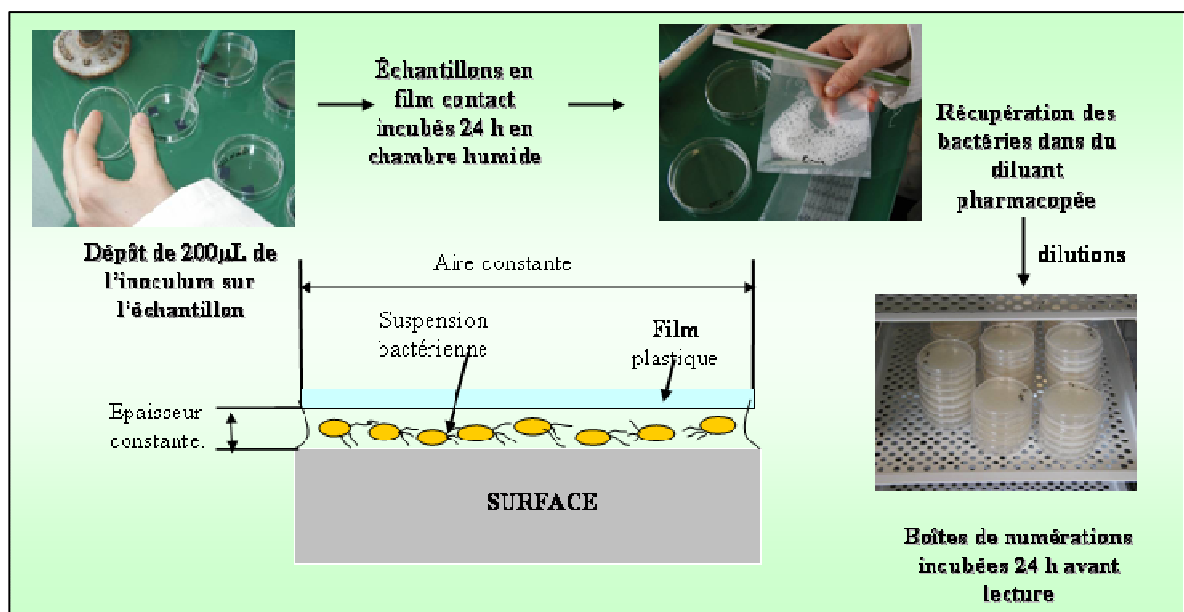


Figure II-6. Schéma simplifié de la procédure du test normé JIS Z 2801.

Les souches testées préconisées par la norme sont *E. coli* et *S. aureus*. Mais l'utilisation d'autres espèces est possible comme par exemple dans le cas des infections nosocomiales, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria* et *Salmonella* pour les germes d'origine alimentaire, *Legionella* pour des applications plus spécifiques.

Le choix peut aussi se faire par rapport aux caractères de résistance des bactéries. Nous avons travaillé avec *S. aureus* (CIP 4.83) car c'est une bactérie dont la structure à Gram positif est relativement résistante et parce qu'elle est rencontrée fréquemment lors d'infections à l'hôpital. De plus, elle pose certains problèmes de résistance vis-à-vis des antibiotiques. Des tests ont aussi été conduits avec une bactérie à Gram négatif, *E. coli* (CIP 54127).

3.1.3. Détermination de l'activité antibactérienne

En accord avec la norme JIS, et en supposant le nombre de bactéries initiales constantes, l'activité antibactérienne standard R est égale à la différence du nombre de bactéries exprimé en logarithme par rapport à une surface témoin.

Activité standard R = $\log A - \log B = [\log (A/B)]$	Equation II-6.
--	-----------------------

avec,

A = nombre de bactéries viables après 18 à 24 h d'incubation sur la surface non traitée (témoin),

B = nombre de bactéries viables après 18 à 24 h d'incubation sur la surface traitée.

De l'expression ci-dessus, et de la dépendance en fonction du temps, il ressort les définitions suivantes (Figure II-7) :

- Bactéricidie totale = il ne reste aucune bactérie sur la surface traitée après l'incubation ;
- Partiellement antibactérien $R \geq 1$ et des colonies sont dénombrées sur la surface traitée ;
- Surface inactive R comprise entre 0 et 1.

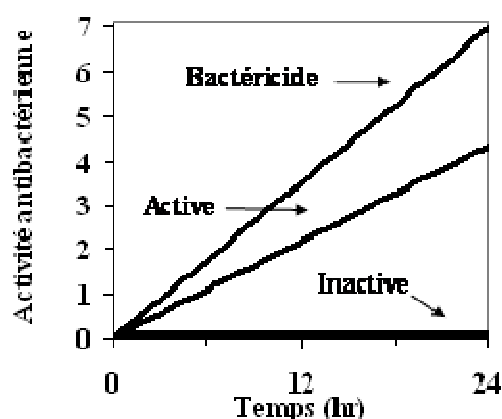


Figure II-7. Activité antibactérienne en fonction du temps d'incubation montrant les conditions pour une surface totalement bactéricide, inactive et partiellement antibactérienne (intermédiaire).

Activité « normalisée »

Dans notre cas, pour mieux interpréter les résultats et tenter des comparaisons significatives en fonction des conditions de dépôt, nous avons «normalisé» l'activité R en exprimant les résultats de la façon suivante :

Activité relative $R_{rel} = [\log (A/B)]/[\log (A)] * 100$	Equation II-7.
---	-----------------------

Cette activité relative R_{rel} varie entre 0 et 100 %. En faisant varier le temps de contact cette méthode donne une meilleure visualisation des aspects cinétiques de l'activité. De plus elle permet de s'affranchir de la variation du nombre de bactéries retrouvées sur l'échantillon témoin.

De la définition ci-dessus, 3 situations peuvent être mise en évidence :

$R_{rel} = 100$, dit « bactéricide » ;

$0 < R_{rel} < 100$, dit « bactériostatique » ;

$R_{rel} = 0$, dit « inactif ».

3.2. Test dépôt antibactérien de Weight, Haldar and Klivanov : aérosol de bactéries

Bien que le test JIS Z 2801 montre l'effet antibactérien d'une surface, il est assez éloigné de ce qui se passe dans la réalité. En effet, le contact entre les bactéries et la surface est « forcé ». Weight, Haldar and Klivanov [190] ont proposé un test différent et plus discriminant (que nous appellerons test WHK dans la suite du document). Il évalue l'adhésion des bactéries et l'effet antibactérien d'une surface en présence d'un milieu nutritif.

3.2.1. Principe

Une suspension contenant des bactéries est pulvérisée vers la surface des échantillons. Après séchage une plaque de gélose enrichie en nutriments est déposée sur la surface. Le

mécanisme de croissance des bactéries dans un incubateur à 37 °C au contact de la gélose est en concurrence avec l'effet antibactérien de la surface.

3.2.2. Protocole

Les lames de verre (75 x 25 mm²) ont tout d'abord été placées verticalement à 15 cm du pulvérisateur. Ensuite, sous une hotte spécifique (PSM de type II), la suspension bactérienne a été pulvérisée vers les échantillons au moyen d'un pulvérisateur réglé pour un débit de 1 ml.min⁻¹ (Figure II-8). Deux souches de bactéries ont été utilisées pour ce test : *S. aureus* (CIP 4.83) et *E. coli* (CIP 54127). Le nombre de colonies sur les échantillons ne doit pas dépasser 120 colonies par lame pour *S. aureus* et 150 colonies pour *E. coli*. Ce nombre est fixé pour des raisons pratiques. En effet au-delà il devient impossible de dénombrer correctement le nombre de colonies sur la surface. Ensuite, les échantillons ont été séchés à l'air ambiant sous hotte pendant 2 min. Finalement, les lames ont été placées dans des boîtes de Petri séparées puis ont été recouvertes avec une plaque de gélose (BMH à 1,5 g/100 ml) ayant la même taille que les lames de verre. Toutes ces opérations ont été réalisées sous une hotte appropriée. Les boîtes de Petri ont été ensuite placées dans un incubateur à 37 °C pendant 18 à 24 h (Figure II-8).

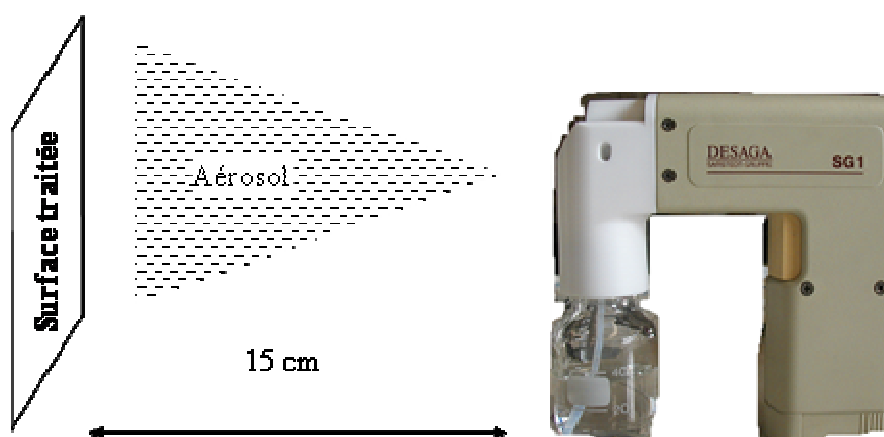


Figure II-8. Test WHK : aérosolisation de suspension des bactéries sur une lame de verre.

3.2.3. Interprétation

La comparaison du nombre de colonies sur les lames témoins et d'essais permet d'évaluer l'efficacité antibactérienne. Si aucune bactérie n'est dénombrée sur l'échantillon

test, la surface est considérée comme bactéricide. Par contre si le nombre de colonies sur l'échantillon témoin est similaire à l'échantillon à tester, la surface est considérée comme inactive. Entre les deux, la surface est considérée comme active (Figure II-9).

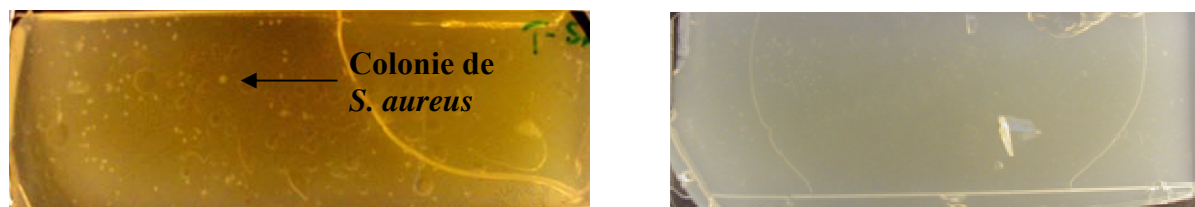


Figure II-9. Illustration du test WHK : Témoin (a) et échantillon actif (b) après l'incubation à 37 °C pendant 18 h.

3.3. Test du brumisateur

3.3.1. Principe

L'objectif de ce test est de se rapprocher des conditions représentatives des ambiances humides. Ce test est plus long et plus complexe. Il consiste à créer un brouillard dans une enceinte fermée trois fois par jour pendant quelques minutes à température ambiante. Il évalue le pouvoir d'adhésion et de croissance des bactéries sur la surface testée. Ensuite, les bactéries sont observées sur la surface des échantillons après une coloration au cristal violet.

3.3.2. Protocole

Après un nettoyage soigné du dispositif expérimental, une solution contenant du TSB (Tryptic Soy Broth) = 4*200 ml contenant une souche de *Bacillus* est versée au fond d'un bac (TSB bouillant nutritive contient le Peptone d'origine non animale 20 g ; glucose 2,5 g ; NaCl 5,0 g ; di-potassium hydrogen phosphate 2,5 g par litre). Les lames sont placées sur les portes-échantillons avec la face traitée vers la paroi de la boîte. L'aérosolisation est activée 3 fois 10 minutes dans une journée (à 10 h, 13 h et 16 h) pendant 3 jours (Figure II-10). Ensuite, les lames sont récupérées. Avant observation, elles sont trempées dans une solution à 10 g.l⁻¹ de cristal violet pendant 1 min afin d'observer au microscope les bactéries sur la surface des échantillons.

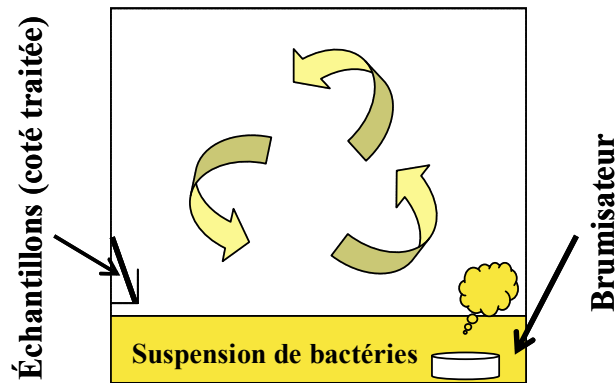


Figure II-10. Schéma simplifié du réacteur batch avec le brumisateur et les échantillons.

3.3.3. Interprétation

Après coloration, les bactéries sont dénombrées au microscope optique avec un grossissement (x1000) sur un échantillon témoin et un échantillon traité.

3.4. Test de diffusion des principes actifs

La norme EN ISO 20645 [191] a été initialement appliquée aux textiles. La largeur de la zone d'inhibition (où les bactéries ne se développent pas) détermine l'effet antibactérien de l'échantillon. La figure II-11 présente un exemple d'un produit commercial connu où la zone d'inhibition se voit très clairement (zone grise entourant l'échantillon blanc).

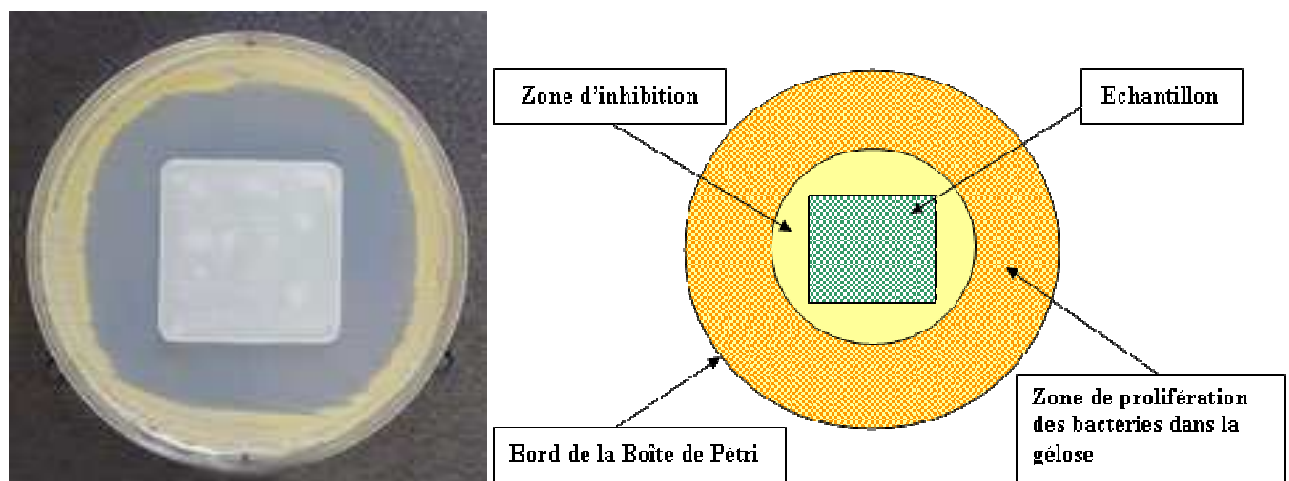


Figure II-11. Illustration du test de diffusion des principes actifs avec un produit antibactérien commercialisé sur le marché et schéma explicatif. C'est la face arrière de l'échantillon qui est visible, la partie active étant en contact avec le milieu gélosé.

Finalement, ce test mesure bien l'effet antibactérien de la surface mais surtout la diffusion de l'élément antibactérien vers l'environnement extérieur. Cette diffusion présente 2 inconvénients : 1) toxicité de la surface par émission de l'agent actif, 2) épuisement de l'élément actif dans l'échantillon avec à court terme une perte d'activité. Dans notre cas, nous utilisons ce test pour démontrer la non diffusion des éléments antibactériens vers l'extérieur afin de limiter la toxicité de nos surfaces et de garantir un effet dans le temps.

3.4.1. Principe

L'échantillon est déposé sur un milieu gélosé ensemencé par un inoculum bactérien. Pendant l'incubation, il se peut que l'élément actif de l'échantillon (Ag ou Cu) diffuse dans le milieu gélosé provoquant la formation d'une zone d'inhibition.

3.4.2. Protocole

S. aureus est employé également pour ce test. Les bactéries sont mélangées avec la gélose en surfusion avant d'être introduites dans une boîte de Petri. Avant que la gélose ne devienne solide, nous déposons les échantillons (20 x 20 mm²), face traitée contre la gélose. Après une période d'incubation de 18-24 h à 37 °C, la largeur de la zone d'inhibition est observée (Figure II-11).

3.4.3. Détermination la largeur de la zone d'inhibition et interprétation

La largeur de la zone d'inhibition se détermine de la façon suivante (Equation II-8) :

$H = (D-d) / 2$	Equation II-8.
-----------------	-----------------------

avec,

H = la zone d'inhibition en millimètre ;

D = le diamètre total de la zone d'inhibition en millimètre ;

d = le diamètre total de l'échantillon en millimètre.

Dans la norme [191], la longueur de la zone d'inhibition permet de déterminer l'effet antibactérien. Dans notre cas, nous recherchons évidemment à n'avoir aucune zone

d'inhibition ce qui attestera de la non diffusion de l'agent antibactérien dans le milieu extérieur et sera un gage de durabilité.

4. Propriétés photocatalytiques

Nos dépôts sont constitués de TiO_2 et d'un élément métallique antibactérien. Le dioxyde de titane sous sa forme anatase est très connu pour son activité photocatalytique. Au cours de notre travail, une détermination de l'activité photocatalytique est conduite afin de vérifier si une association avec l'activité antibactérienne de l'argent ou du cuivre (Ag et Cu) existe.

4.1. Principe

L'échantillon est placé dans une solution aqueuse d'Orange G. Une lampe UV (365 nm) illumine l'échantillon et la concentration de la solution d'Orange G est mesurée au cours du temps afin d'évaluer la dégradation du colorant sous l'effet photocatalytique hétérogène.

4.2. Protocole

Le banc de test en solution a été développé au laboratoire CIRIMAT (Figure II-12). Il comprenait :

1. une lampe UV (Philips HPN) de 125 W qui émet principalement à 365 nm avec un flux d'UV de $1,05 \text{ mW.cm}^{-2}$;
2. le réacteur constitué d'une cuve rectangulaire en quartz, transparent aux longueurs d'ondes supérieures à 290 nm ; l'échantillon est orienté de telle façon que la face sur laquelle se trouve le dépôt de TiO_2 soit dirigée vers la lampe UV ;
3. un agitateur pour homogénéiser la solution à dégrader et faciliter l'adsorption et la désorption des molécules sur la surface du catalyseur.

Le tout est placé dans une étuve à température constante (25 °C).

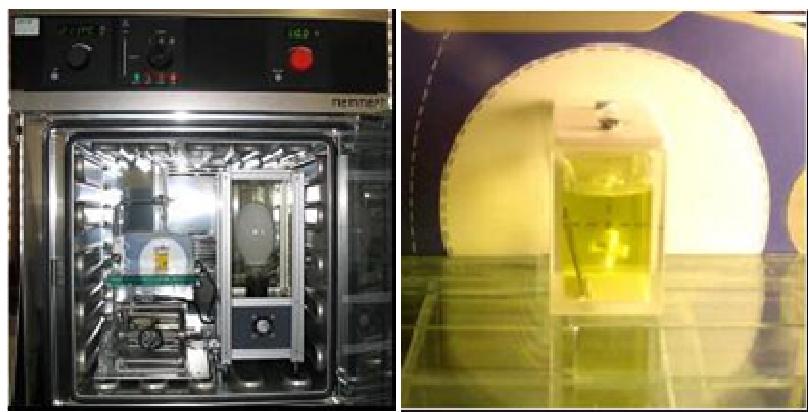


Figure II-12. Enceinte du test photocatalytique (à gauche); cuve en silice optique contenant l'échantillon sous irradiation UV plongé dans la solution d'Orange G.

Un échantillon de Si ($20 \times 20 \text{ mm}^2$) a été immergé dans la cuve en silice contenant 25 ml de solution d'Orange G ($10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$). L'échantillon était placé à l'abri de la lumière et sous agitation pendant 1 h avant irradiation sous UV. La concentration de la solution d'Orange G a été déterminée en mesurant l'absorbance de la solution à 480 nm avec un spectrophotomètre, et en appliquant la loi de Beer–Lambert.

4.3. Interprétation

La courbe de décomposition de l'Orange G a été tracée en mesurant la concentration sur des prélèvements de 2,5 à 3 mL de solution à des temps précis (15, 30, 60, 90, 120, 180 min). La pente de la courbe donnait la vitesse de dégradation de l'Orange G pour l'échantillon.

Chapitre III : ELABORATION ET CARACTERISATION DES DEPOTS COMPOSITES $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ ET COMPORTEMENT ANTIBACTERIEN

1. Paramètres d'élaboration	81
1.1. Paramètres d'injection des solutions de précurseurs	81
1.2. Fraction molaire des précurseurs.....	82
2. Caractérisations physico-chimiques, structurales et antibactérienne des dépôts $\text{TiO}_2\text{-Ag}$	84
2.1. Cinétique de croissance	84
2.2. Morphologie des dépôts	85
2.3. Structure cristalline des dépôts.....	86
2.4. Teneur en argent des films (analyses XPS et SIMS)	89
2.5. Propriétés physiques, principalement optiques des dépôts.....	90
3. Activité antibactérienne et photocatalytique	92
3.1. Activité antibactérienne	92
3.2. Activité photocatalytique.....	93
3.3. Double fonctionnalité : photocatalytique et antibactérienne.....	95
4. Conclusion sur les dépôts nano composites $\text{TiO}_2\text{-Ag}$	96

Ce chapitre traite de l'élaboration et des propriétés des dépôts de $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ par DLI-MOCVD. La première partie est consacrée aux paramètres d'élaboration avant de détailler et discuter des propriétés physico-chimiques, structurales et antibactériennes des films.

1. Paramètres d'élaboration

L'élaboration des films composites $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ demande l'utilisation de deux précurseurs moléculaires. Dans ce cas de nombreux paramètres peuvent influencer la structure du dépôt. Afin de limiter ceux-ci et tenant compte de l'expérience du CIRIMAT et du CEA, la température de dépôt et la pression totale ont été fixées respectivement à 400 °C et 800 Pa. Dans ces conditions, la fraction molaire de chaque précurseur devient le paramètre essentiel de notre procédé.

1.1. Paramètres d'injection des solutions de précurseurs

La dissolution du pivalate d'argent (voir chapitre II.1.2) est délicate et limitée dans un mélange de mésitylène (90 %) et de di-propylamine (10 %). La limite de la solubilité est voisine de 0,15 mol.L⁻¹. Pour éviter toute précipitation ou bouchage de l'injecteur, la concentration maximale choisie ne dépassait pas 0,10 mol.L⁻¹. Les paramètres d'injection de la solution contenant le précurseur d'argent sont présentés dans le tableau III-1. Ces paramètres d'injection influencent la composition de la phase gazeuse dans le réacteur et donc la composition des dépôts. Pour rappel, la température de croissance est égale à 400 °C et la pression totale est fixée à 800 Pa.

Piv-Ag (mol.L ⁻¹)	Fréquence d'injection de la solution Piv-Ag (Hz)	Temps de dépôt (min)	Fraction molaire de TTIP	Fraction molaire de Piv-Ag
0,025 - 0,1	0,5 – 2	0,5-15	2,8-3,12	0,04-0,64

Tableau III-1. Paramètres d'injection des précurseurs pour le dépôt $\text{TiO}_2\text{-Ag}$. Le temps d'ouverture des injecteurs était fixés à 2 ms et le débit de $\text{N}_2 + \text{O}_2$ était maintenu constant à 360 sccm chacun.

1.2. Fraction molaire des précurseurs

La fraction molaire de chaque précurseur est déduite de la consommation en poids de chaque solution qui est mesurée avant et après dépôt. Pour l'ensemble des mesures effectuées, la consommation variait entre 0,7 et 0,9 g.min⁻¹. Dans les conditions opératoires que nous avons utilisées, cela représentait une variation de débit gazeux total de ± 30 sccm pour une solution injectée et de 7 % sur les fractions molaires respectives de TTIP et Piv-Ag. Dans les résultats suivants, un débit moyen de 0,8 g.min⁻¹ était utilisé pour calculer les fractions molaires de chaque précurseur et le débit total.

Dans notre étude, deux paramètres clés contrôlaient les fractions molaires dans le réacteur : la concentration du précurseur d'argent dans la solution injectée et sa fréquence d'injection. La figure III-1 présente l'évolution des fractions molaires des deux précurseurs et du débit total en fonction de la fréquence d'injection de la solution contenant le précurseur d'argent. L'augmentation de la fréquence d'injection de Piv-Ag a pour effet d'accroître le débit total.

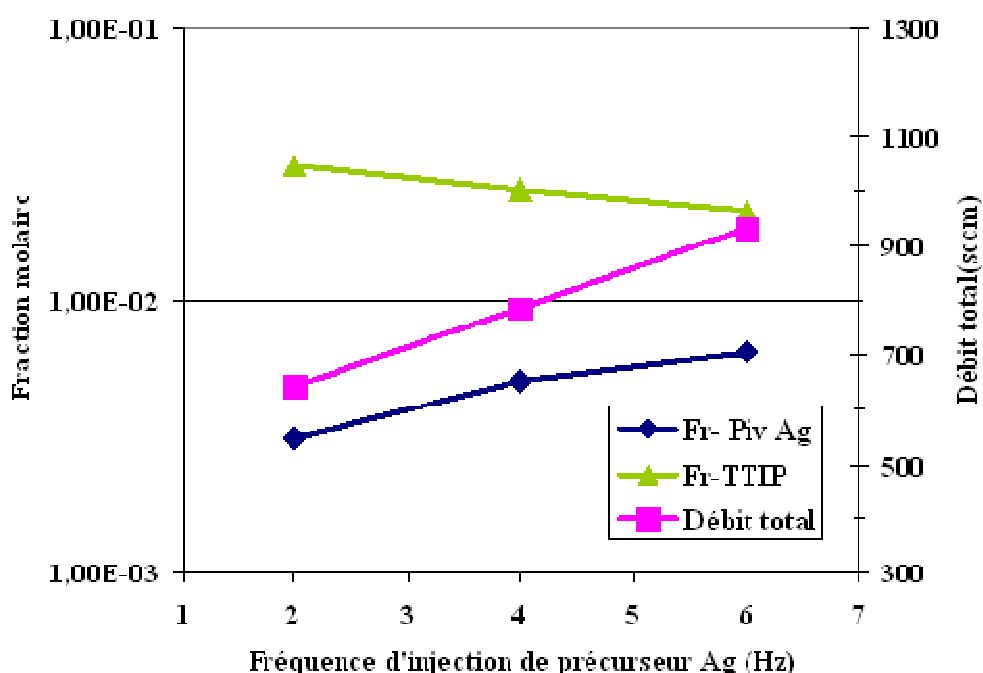


Figure III-1. Variation de la fraction molaire du pivalate d'Ag, de TTIP et du débit total en fonction la fréquence du précurseur d'argent. La concentration du précurseur d'argent en solution était fixée à 0,1 mol.L⁻¹.

Une analyse des fractions molaires en phase gazeuse de chaque composé est présentée ci-après. Avec le procédé DLI-MOCVD, une modification des paramètres d'injection de la solution contenant le précurseur d'argent modifiait le débit total et donc sensiblement la fraction molaire du précurseur de titane bien que la concentration de TTIP et ses conditions d'injection aient été constantes. Les résultats antibactériens sont donc souvent présentés en fonction du rapport de la fraction molaire du précurseur d'argent sur la fraction molaire du précurseur de titane car ce paramètre agit directement sur la teneur en Ag des films.

La figure III-2 illustre la répartition des fractions molaires pour une fréquence d'injection de la solution d'argent de 2 Hz.

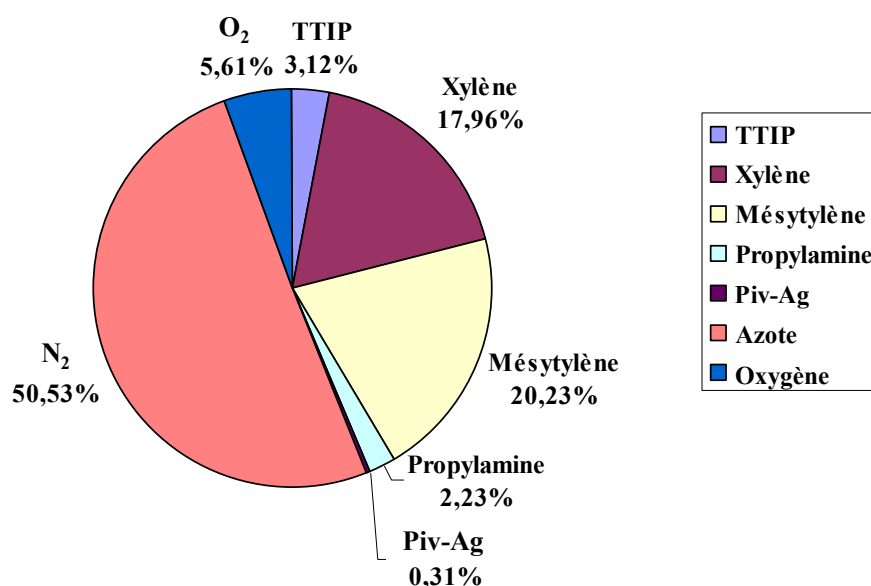


Figure III-2. Répartition typique des fractions molaires en pourcentage dans le réacteur DLI-MOCVD.

Le précurseur TTIP correspondait à environ 3 % de la phase gazeuse et le précurseur d'argent moins de 0,5 %. La fraction molaire du précurseur d'argent est très faible. Par contre les gaz azote et oxygène représentaient la majorité de la composition de l'atmosphère gazeuse du réacteur (56,5 %). Les solvants utilisés pour dissoudre ou diluer les précurseurs constituaient une fraction molaire significative (près de 40 %) de la composition de l'atmosphère gazeuse (Figure III-2). Cette présence de vapeur de solvant avec le procédé DLI-MOCVD peut être un problème pour contrôler ou éviter la contamination des dépôts en carbone. Dans tous les cas ces vapeurs doivent être traitées dans les effluents, soit par

piégeage cryogénique soit par craquage thermique. Cet aspect est évidemment à considérer lors du choix des solvants hydrocarbonés et des solutions alternatives comme l'utilisation du CO_2 supercritique sera à l'avenir intéressante à explorer.

2. Caractérisations physico-chimiques, structurales et antibactérienne des dépôts $\text{TiO}_2\text{-Ag}$

2.1. Cinétique de croissance

Pour les couches TiO_2 seules, la cinétique de croissance augmentait linéairement avec le temps de dépôt et était de $115 \text{ nm}\cdot\text{min}^{-1}$ avec la douche de répartition de gaz. Quand le précurseur d'argent était injecté simultanément avec le précurseur de titane (TTIP), la cinétique de croissance chutait à environ $55 \text{ nm}\cdot\text{min}^{-1}$ quelle que soit la fraction molaire de Piv-Ag (Figure III-3).

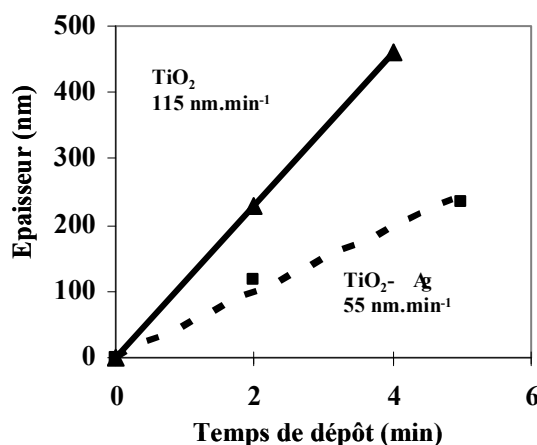


Figure III-3. Variation de l'épaisseur des films $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ et TiO_2 en fonction du temps de dépôt sur des substrats de Si (fractions molaires de Piv-Ag = 0,31 % et O_2 = 5,6 %).

Plusieurs hypothèses peuvent expliquer cette chute : (i) le mélange des solvants et précurseurs dans la phase gazeuse peut modifier la nucléation et la croissance du film, (ii) une interaction des deux précurseurs pendant la décomposition de ceux-ci peut être une cause d'appauvrissement, (iii) la présence des nanoparticules d'argent altère la croissance du

dioxyde de titane. Une étude antérieure confirme la dernière hypothèse puisque les auteurs ont montré que la présence d'élément métallique réduit la cinétique de croissance des films d'oxyde [192]. Il est probable que cette baisse provenait de la combinaison de plusieurs de ces effets.

2.2. Morphologie des dépôts

La morphologie en surface et en fractographie des dépôts de $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ a été observée au MEB-FEG sur des films de 20 à 1000 nm d'épaisseur sur Si. Les dépôts étaient homogènes, denses et uniformes et ne montraient aucune croissance colonnaire (Figure III-4). Ils présentent un aspect granuleux et une compacité élevée.

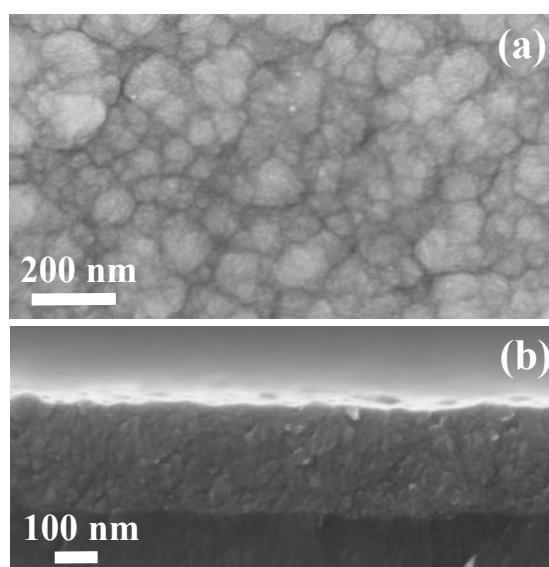


Figure III-4. Morphologie de surface (a) et en coupe (b) d'un film $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ déposé sur Si.

La morphologie des films devenait plus grossière avec l'augmentation de l'épaisseur, par exemple en passant de 60 à 300 nm comme le montre la figure III-5.

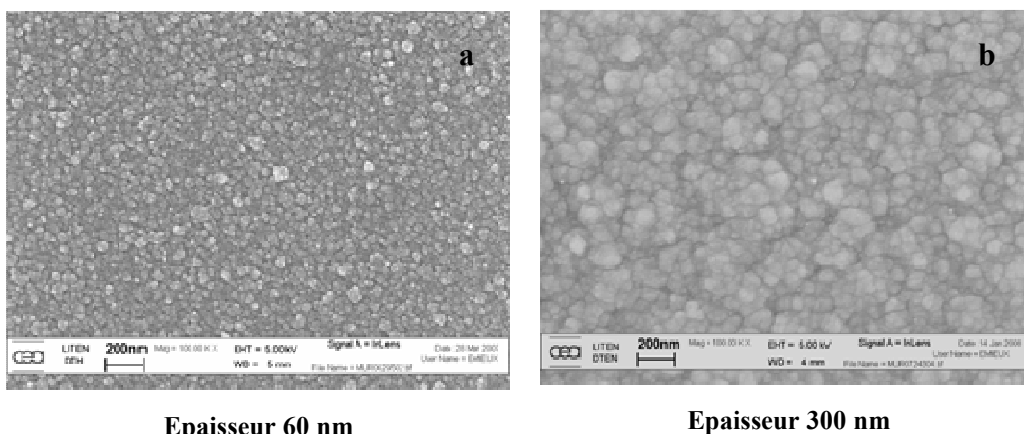


Figure III-5. Micrographies MEB de films $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ déposés sur Si avec une épaisseur de 60 nm (a) et 300 nm (b).

Une augmentation de la fraction molaire de Piv-Ag modifie aussi fortement cette morphologie en la rendant plus fine. Elle est alors constituée de grains ou agrégats plus petits (Figure III-6).

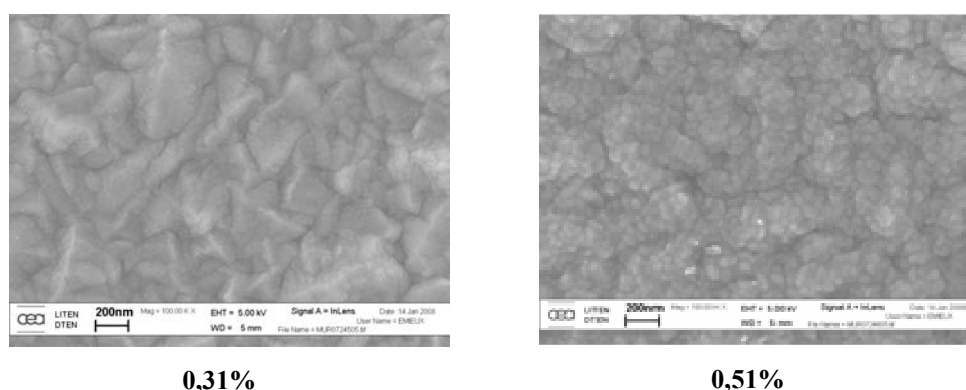


Figure III-6. Influence de la teneur en argent, plus précisément de la fraction molaire de Piv-Ag) sur la morphologie des films $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ (fraction molaire d'oxygène = 5,6 et 4,6 %, respectivement ; épaisseur des films 1 μm).

2.3. Structure cristalline des dépôts

Les films $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ ont été analysés par diffraction de rayons X (DRX). Deux types d'acquisition ont été employés : en incidence rasante pour l'identification des structures et les plus faibles épaisseurs (<100 nm) et, en configuration $\Theta\text{-}\Theta$, pour déterminer le rapport d'intensité $(200)\text{Ag}/(101)\text{TiO}_2$. La figure III-7 montre le diagramme d'un dépôt $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ de 100 nm d'épaisseur en incidence rasante.

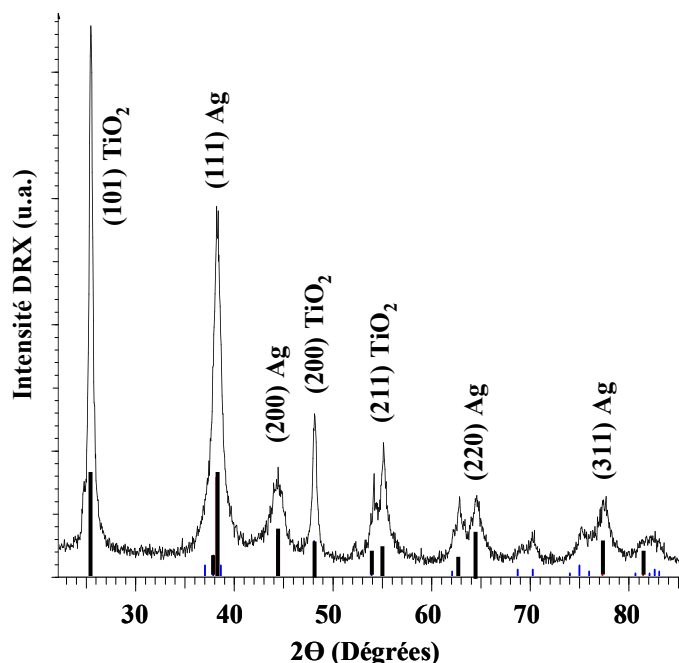


Figure III-7. Diagramme de diffraction des RX d'un film Ag-TiO₂ (incidence rasante). Conditions de dépôt : rapport molaire Piv-Ag/TTIP = 0,31 % ; fraction molaire O₂ = 5,6 % ; sans douche de répartition de gaz.

L'analyse par DRX montre que le dioxyde de titane possède la structure cristalline anatase. Dans ces conditions d'élaboration l'argent est détecté sous sa forme métallique de structure cubique à faces centrées. La taille moyenne des cristallites a été estimée d'après les acquisitions en Θ - Θ en employant la formule de Scherrer (Equation II-1) à partir de la largeur à mi-hauteur de la raie (101) de TiO₂ anatase et (200) de Ag. Les valeurs typiques trouvées pour le diagramme de la figure III-7 sont 25 nm pour TiO₂ et 8 nm pour Ag.

En fait, la taille moyenne des cristallites de TiO₂ est entre 20 à 30 nm quelque soit la fraction molaire de Piv-Ag. L'augmentation de la teneur en Ag des couches ne change pas significativement la taille moyenne des cristallites de TiO₂, ce qui est en accord avec une étude antérieure [192]. Pour l'argent, il n'est pas possible de déterminer d'évolution de taille moyenne en fonction des paramètres de dépôt car le pic de diffraction est trop faible, voire inexistant.

Au MET l'argent se présente sous forme de nanoparticules d'une taille comprise entre 5 et 10 nm, ce qui est en bon accord avec l'analyse par DRX. La figure III-8 montre une

bonne dispersion des nanoparticules sphériques d'argent dans la matrice de TiO_2 (contrastes noirs), sans agglomération de celles-ci. Pour de faibles fractions molaires en Piv-Ag (typiquement des rapports de fraction molaire Piv-Ag/TTIP inférieur à 0,64 %), les nanoparticules d'argent ne sont plus détectées.

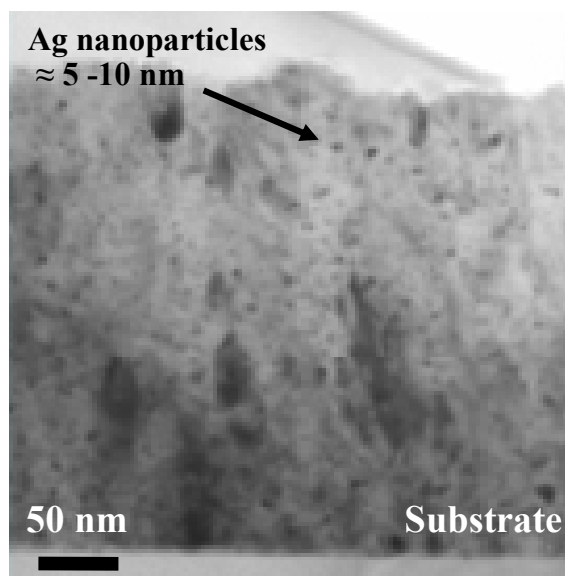


Figure III-8. Micrographie MET d'une coupe transverse d'un film TiO_2 -Ag sur Si.

S'il n'a pas été possible d'observer des variations de taille des nanoparticules d'Ag, par contre l'évolution du rapport d'intensité des pics de diffraction $(200)\text{Ag}/(101)\text{TiO}_2$ montre que la teneur en argent dépend des paramètres opératoires. Ainsi, quand le rapport molaire Piv-Ag/TTIP dans la phase gazeuse augmente, ce rapport d'intensité des pics de diffraction augmente traduisant un accroissement de la teneur en Ag des films (Figure III-9). Pour un rapport de fraction molaire Piv-Ag/TTIP inférieur à 0,15, le pic de diffraction de l'argent est trop faible ce qui signifie que la teneur en argent dans les films était inférieure au seuil de détection.

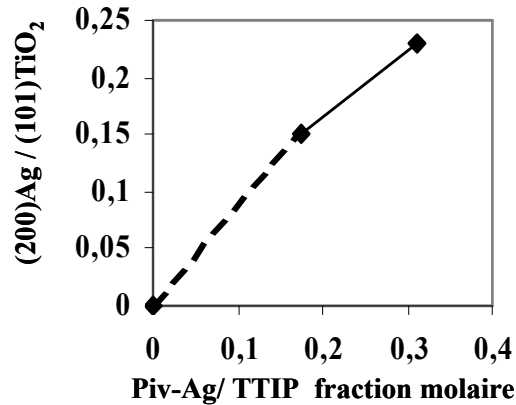


Figure III-9. Variation du rapport d'intensité des pics de diffraction en fonction du rapport de fraction molaire ($O_2 = 5,6 \%$).

2.4. Teneur en argent des films (analyses XPS et SIMS)

Comme nous venons de commencer à le voir, la teneur en Ag dans les dépôts est faible et difficilement quantifiable. Pour analyser l'évolution de cette teneur en fonction du rapport de fraction molaire Piv-Ag/TTIP, nous avons déterminé une teneur relative définie par le rapport d'intensité du signal de l'élément Ag sur l'élément titane mesuré par SIMS et EDS (figure III-10). Par EDS, en dessous du rapport de fraction molaire de 0,2, l'argent n'est plus détecté. Par contre par SIMS, sa présence est détectée même pour les basses fractions molaires de Piv-Ag en raison de la plus grande sensibilité de cette technique. Ces corrélations montrent que la teneur en Ag des films est contrôlée par la composition de la phase vapeur.

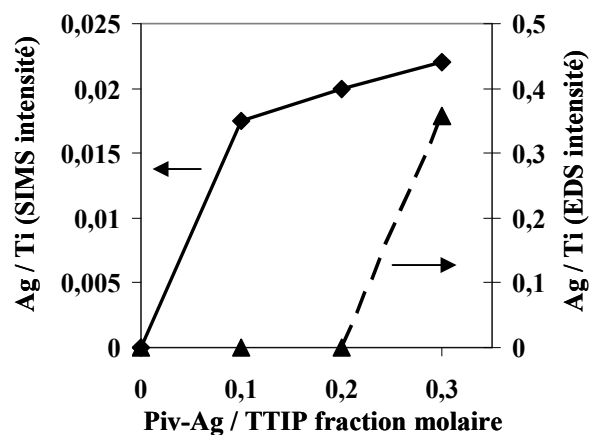


Figure III-10. Variation des rapports d'intensité Ag/Ti déterminés par SIMS (axe de gauche) et EDS (axe de droite) en fonction du rapport des fractions molaires Piv-Ag/TTIP (Piv-Ag = 0,64 % ; $O_2 = 3,9 \%$)

La spectroscopie XPS a également été utilisée pour tenter de déterminer la teneur en argent mais aucun signal significatif correspondant n'a pu être détecté, masqué d'ailleurs pour partie par la couche de contamination de surface. Cela semble confirmer que le pourcentage atomique d'argent dans nos films était faible et inférieur au seuil de détection. A partir de ces résultats, nous pouvons affirmer que la teneur en Ag de nos revêtements $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ était inférieure à 1 % atomique [73, 113].

Le profil SIMS des principaux éléments contenus dans un dépôt $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ de 60 nm d'épaisseur sur Si est présenté sur la figure III-11. La concentration en Ag semble plus importante près de la surface du film (sur quelques nm d'épaisseur). Cependant cela pourrait aussi être dû à une exaltation du signal par la couche de pollution de surface. Après abrasion ionique (Ar^+), les profils de composition sont relativement plats ce qui révèle que l'argent était uniformément réparti dans l'épaisseur du film.

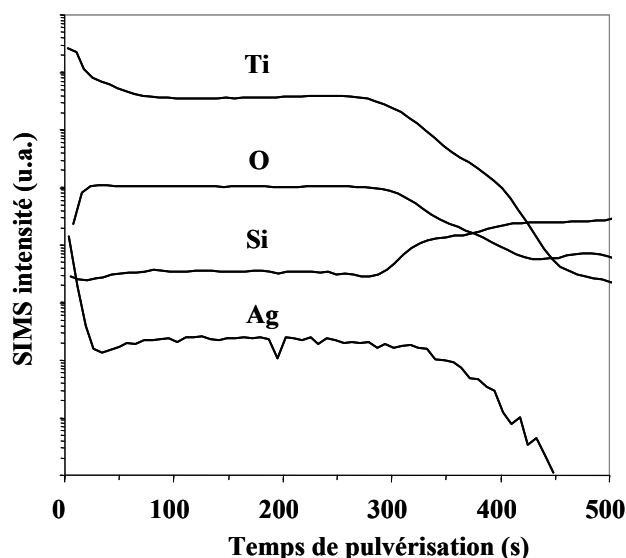


Figure III-11. Profil SIMS d'un film $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ de 60 nm d'épaisseur déposé sur Si.

2.5. Propriétés physiques, principalement optiques des dépôts

Tous les dépôts $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ de cette étude présentaient un caractère hydrophobe assez marqué avec typiquement un angle de contact d'une goutte d'eau d'environ 80-100 degrés. Aucune évolution significative de cette propriété n'a été observée en fonction des conditions de dépôt. Il est à noter que lorsque les films sont suffisamment minces (inférieurs à 300 nm),

leur rugosité de surface ne variait pas de manière importante, ce qui n'est pas *a priori* propice à modifier la mouillabilité.

La figure III-12 montre le spectre en transmission dans le domaine UV-Visible-NIR de deux échantillons $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ à teneur en Ag différente déposés sur verre. Dans les deux cas, représentatifs de nos échantillons, les spectres présentaient les oscillations caractéristiques des interférences résultant des multiréflexions aux interfaces. Dans le cas de dépôts homogènes, le traitement de ces oscillations permettait de déduire l'indice de réfraction, l'épaisseur (optique), voire la porosité du film en se référant au matériau massif. Dans le cas de films composites, les grandeurs tirées de ces modèles perdent quelque peu d'intérêt et ne seront pas commentées ici.

Les films sont relativement transparents dans le domaine visible et surtout proche infrarouge. Ils absorbent très fortement en dessous de 350 nm en raison des transitions électroniques à travers la bande interdite de TiO_2 (semi-conducteur à grand « gap »: 3,2 eV). Dans le domaine visible (400-800 nm), la transmittance des films de 1 μm d'épaisseur variait de 40 à 70 %, les films plus minces ayant une meilleure transparence. La transparence était également fonction de la teneur en Ag. Typiquement, la transmittance diminuait quand la teneur en Ag augmentait.

La signature de la présence de nanoparticules d'argent est donnée par la bande d'absorption assez large proche de 500 nm et attribuée à la résonance plasmon de surface de l'argent (SPR, « surface plasmon resonance »). Cette absorption résulte d'une excitation collective des électrons de la bande de conduction sous illumination électromagnétique. Cette SPR est sensible à la forme et la taille des nanoparticules métalliques, ainsi qu'à l'environnement chimique local à l'interface des nanoparticules (interface métal-diélectrique). Cette propriété est d'ailleurs exploitée dans des dispositifs électroniques comme les capteurs chimiques. C'est également ce qui fait que les nanoparticules de Ag ou Au peuvent prendre presque toutes les couleurs suivant leur taille et forme, différant ainsi de la couleur conventionnelle du métal massif.

La largeur relativement grande de la raie SPR était cohérente avec la taille nanométrique observée par MET puisqu'il a été montré que la largeur de cette raie d'absorption augmentait lorsque la taille des nanoparticules métalliques diminuait. La raie SPR de Ag est plutôt attendue vers 400 nm mais comme évoqué ci-dessus sa position dépend de plusieurs facteurs. Le décalage de cette absorption vers le rouge fait que les films paraissent parfois bleutés (couleur complémentaire).

Le fait que cette raie SPR n'apparaisse pas pour les très faibles teneurs en Ag devra être mémorisé lors d'une discussion sur le mécanisme global de cet effet antibactérien.

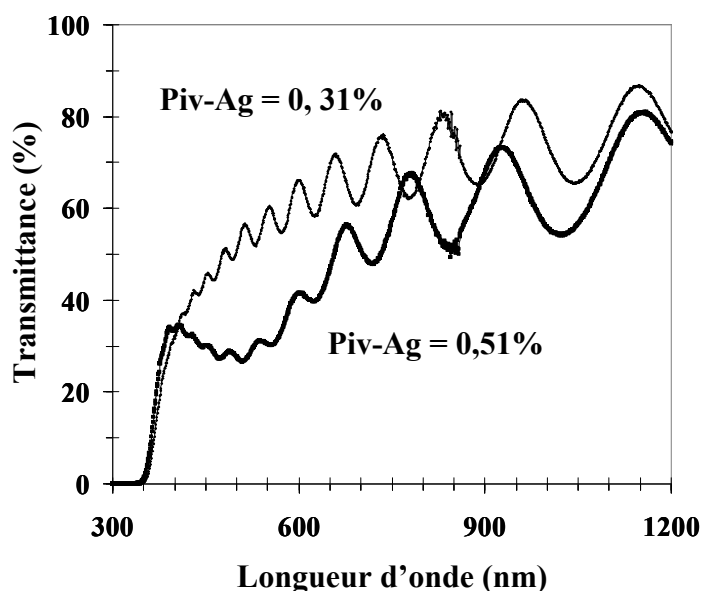


Figure III-12. Transmittance de deux dépôts $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ de $1\ \mu\text{m}$ d'épaisseur déposé sur le verre et de teneur en Ag différente.

3. Activité antibactérienne et photocatalytique

3.1. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne (JIS Z 2801) des dépôts est donnée en fonction de la teneur relative en argent des films, elle-même définie par les rapports d'intensité Ag/Ti provenant des analyses SIMS et EDS. Des corrélations entre la composition chimique des dépôts $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ et leurs propriétés antibactériennes ont été établies. Les échantillons ont été préparés avec une fraction molaire d'oxygène de 5,6, 4,6 et 3,9 % et respectivement un rapport de fraction molaire Piv-Ag/TTIP de 0,1, 0,2 et 0,3. Les échantillons ont été testés selon la norme JIS Z 2801 avec de *S. aureus*.

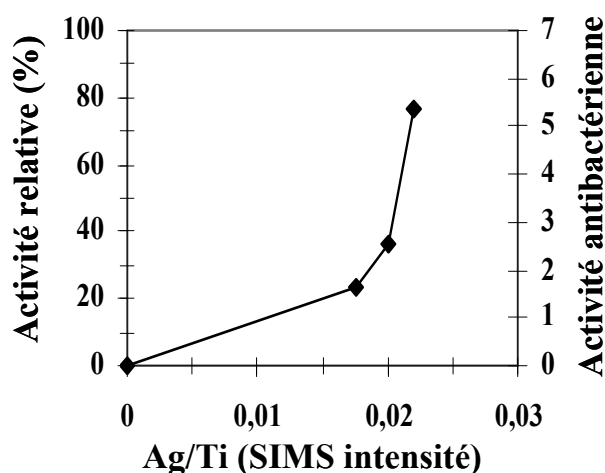


Figure III-13: Variation de l'activité antibactérienne de films $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ en fonction de leur teneur relative en argent déterminée par SIMS (épaisseur ≈ 20 nm). Ordonnée de gauche : activité antibactérienne relative ; ordonnée de droite : activité antibactérienne standard.

La figure III-13 montre la dépendance de l'activité antibactérienne avec la teneur relative en argent (rapport d'intensité Ag/Ti par SIMS) de films $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ de 20 nm d'épaisseur seulement. L'axe de gauche des ordonnées correspond à l'activité antibactérienne relative (Equation II-7) tandis que celui de droite est l'activité antibactérienne standard.

Les propriétés antibactériennes des dépôts $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ augmentaient fortement au-dessus du rapport Ag/Ti de 0,015 (analyses SIMS). En dessous de ce seuil, il y a peu ou pas d'activité. Ce comportement semble correspondre à un seuil de teneur en Ag indispensable pour générer une activité antibactérienne. Ce résultat montre donc que par DLI-MOCVD, il est possible de contrôler l'activité antibactérienne jusqu'à l'obtention d'une surface bactéricide.

Quelques essais ont été menés pour noter l'influence de l'épaisseur du dépôt sur l'activité antibactérienne, dans des conditions opératoires identiques. Cependant, il fut difficile de découpler la variation d'épaisseur de la composition des films et donc de conclure.

3.2. Activité photocatalytique

L'activité photocatalytique des dépôts de $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ a été déterminée à partir de la dégradation de l'Orange G. Pour cette série, *les échantillons ont été élaborés sans la douche*

de répartition de gaz afin de balayer une gamme plus importante de teneur en argent. De plus, nous avons utilisé une quantité plus importante d'oxygène (fraction molaire de $O_2 = 50 - 57 \%$) car nous avons observé que cela favorisait la nucléation de l'argent malgré l'inhibition de la vitesse de croissance.

La dégradation de l'Orange G (voir chapitre II-4) était quasi linéaire avec le temps d'irradiation (Figure III-14). L'activité photocatalytique des dépôts TiO_2 -Ag diminue quand le rapport de fraction molaire de Piv-Ag/TTIP augmentait de 0,013 à 0,1 pour des films d'épaisseur voisine de 600 nm.

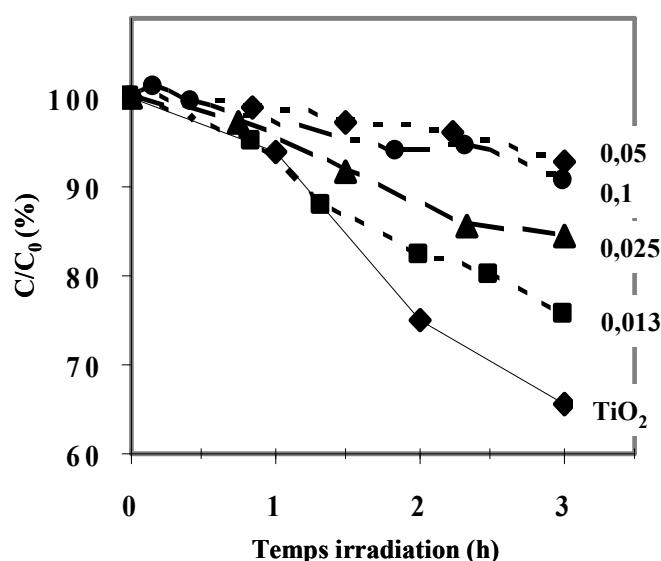


Figure III-14. Dégradation photocatalytique de l'Orange G en fonction du temps d'irradiation sous UV pour différents films TiO_2 -Ag à teneur variable en argent. Cette teneur en Ag croît avec le rapport des fractions molaires Piv-Ag/TTIP indiqué sur la figure.

En augmentant la teneur en Ag des films, on augmente le nombre de nanoparticules d'argent, et donc la quantité de défauts, ce qui favorise la recombinaison des porteurs de charge photogénérés par le rayonnement UV-A et conduit à une baisse de l'activité photocatalytique. Cette évolution fut aussi observée par He *et al.* [192]. L'activité photocatalytique diminuait jusqu'à devenir négligeable pour des rapports de fraction molaire Piv-Ag/TTIP supérieurs à 0,05.

3.3. Double fonctionnalité : photocatalytique et antibactérienne

Pour vérifier la possibilité d'obtenir des dépôts présentant la double fonctionnalité, activité antibactérienne en l'absence de lumière et, photocatalytique sous rayonnement UV, une série d'échantillons a été testée. Les résultats des tests antibactériens (JIS Z 2801 sur *S. aureus*) et photocatalytique (dégradation de l'Orange G sous UV) sont reportés dans le tableau III-2.

Rapport de fraction molaire de Piv-Ag/TTIP	Activité Photocatalytique (%.h ⁻¹)	Activité antibactérienne relative (%)
0	12	0
0,0125	8,33	81
0,025	5,33	3
0,05	2,33	59
0,1	2,67	100

Tableau III-2. Relation entre le rapport molaire Piv-Ag/TTIP et les activités photocatalytiques et antibactériennes.

Le dépôt de TiO₂ pur était le plus actif photocatalytiquement mais il ne présentait aucune activité antibactérienne en l'absence de lumière. Dès que l'argent était introduit dans les dépôts l'activité photocatalytique chutait et une activité antibactérienne apparaissait. Pour la plus forte fraction molaire de précurseur d'argent (0,31 %) correspondant à Piv-Ag/TTIP = 0,1, l'activité photocatalytique devenait négligeable alors que l'échantillon était bactéricide. Il existe donc un domaine de composition où ces dépôts peuvent trouver une application multifonctionnelle : photocatalytique sous irradiation UV-A et antibactérienne en l'absence de lumière.

L'optimisation du compromis de composition requiert davantage d'échantillons afin d'obtenir une bonne corrélation. Cela n'étant pas dans nos objectifs prioritaires, nous n'avons pas poursuivi au-delà. Cependant, l'un des intérêts à coupler ces deux propriétés était de

bénéficier d'un effet autonettoyant vis-à-vis de la matière organique inerte grâce à la photocatalyse, ce qui pourrait accroître la longévité de l'effet antibactérien.

4. Conclusion sur les dépôts nano composites TiO_2 -Ag

Des revêtements nanocomposites de TiO_2 -Ag ont été déposés par DLI-MOCVD à partir de deux précurseurs moléculaires : le TTIP et le pivalate argent. Les caractéristiques physico-chimiques, structurales, photocatalytiques et antibactériennes ont été étudiées en fonction du rapport des fractions molaires Piv-Ag/TTIP, c'est-à-dire de la teneur relative en argent dans les films.

La cinétique de croissance des films TiO_2 était affectée par l'injection du précurseur Piv-Ag. Elle chutait de 115 à 55 $\text{nm} \cdot \text{min}^{-1}$. L'argent modifiait la morphologie des dépôts, mais la structure cristalline anatase de la matrice TiO_2 n'était pas changée. La taille moyenne des cristallites de TiO_2 était voisine de 25 nm et de seulement 8 nm pour les particules d'argent qui ont la structure cubique à faces centrées du métal. Les analyses MET ont confirmé la présence de nanoparticules d'argent de 5 nm pour un dépôt volontairement enrichi en métal. Les observations ont aussi révélé une très faible dispersion de taille de ces nanoparticules métalliques.

Les paramètres d'injection du précurseur Piv-Ag permettaient de contrôler la teneur en argent dans les films. Cette teneur était faible et près, ou en dessous, de la limite de détection de plusieurs techniques (XPS et EDS). La distribution de l'argent dans l'épaisseur des films a été trouvée uniforme par SIMS. Au final, par ce procédé DLI-MOCVD, il était possible de maîtriser la teneur en argent du dépôt.

L'activité antibactérienne de ces films est liée au rapport de fraction molaire Piv-Ag/TTIP et donc à leur teneur en argent. Si celle-ci n'est pas suffisante, les dépôts ne sont pas actifs ou ne sont que bactériostatiques.

Il n'est pas possible de combiner une activité bactéricide (en absence de lumière) et une forte activité photocatalytique sous irradiation UV-A. En effet l'introduction d'argent dans le film fait chuter l'activité photocatalytique par création de centres de recombinaison des porteurs. Un compromis doit donc être trouvé en vue d'une application multifonctionnelle. En conclusion, l'activité antibactérienne des films est liée directement à la teneur en argent et un comportement bactéricide a été observé pour de très faibles teneurs,

vraisemblablement inférieures à un pourcent atomique. Rappelons qu'aucune irradiation UV n'était nécessaire pour obtenir une activité antibactérienne élevée avec ces films nanocomposites.

Chapitre IV : ELABORATION ET CARACTERISATION DE REVETEMENTS NANOCOMPOSITES $\text{TiO}_2\text{-Cu}$ ET COMPORTEMENT ANTIBACTERIEN

1. Paramètres d'élaboration	101
1.1. Précurseurs	101
1.2. Fraction molaire des précurseurs	102
2. Caractérisations des films minces déposés à 400 °C	104
2.1. Cinétique de croissance	104
2.2. Morphologie des dépôts	105
2.3. Analyse de la répartition des particules de cuivre dans les films (MET et SIMS)	106
2.4. Structure cristalline des dépôts	109
2.4.1. Structure des particules de cuivre	110
2.4.2. Structure du dioxyde de titane	111
2.5. Teneur en cuivre des films composites $\text{TiO}_2\text{-Cu}$	115
2.6. Elaboration de films $\text{TiO}_2\text{-Cu}$ à partir d'une seule solution (TTIP et Cu(TMHD)_2) dans du xylène 118	
3. Influence de la température de dépôt	119
4. Activité antibactérienne	122
4.1. Influence de la fraction molaire du précurseur de cuivre	122
4.2. Effet de l'épaisseur	123
5. Tests antibactériens non standards	125
5.1. Cinétique de l'activité antibactérienne	125
5.2. Test de diffusion	126
5.3. Tests WHK et du brumisateur	127
5.3.1. Test WHK	127
5.3.2. Test du brumisateur	129
5.4. Test de vieillissement	131
6. Conclusion sur les dépôts $\text{TiO}_2\text{-Cu}$	134

Dans ce chapitre, du cuivre a été incorporé en tant qu'agent antibactérien dans la matrice de TiO_2 . Nous avons évoqué dans l'état de l'art l'activité antibactérienne de cet élément métallique, il est donc utile de comparer des dépôts contenant du cuivre à ceux contenant de l'argent en termes de propriétés structurales et d'activité antibactérienne. Deux avantages à l'utilisation du cuivre :

- un intérêt expérimental, car le précurseur de cuivre se dissout dans le même solvant que TTIP, ce qui représente une simplification du procédé;
- un intérêt économique, car le coût du précurseur de cuivre est plus faible que celui de l'argent, et de plus il est plus stable.

Comme au chapitre précédent, les conditions expérimentales et les propriétés structurales seront traitées avant les propriétés antibactériennes de ces dépôts.

1. Paramètres d'élaboration

La pression totale a été fixée comme pour l'argent à 800 Pa et pour la majorité des dépôts la température était de 400 °C. Cependant quelques essais ont aussi été conduits à 350 et 450 °C. Tous les dépôts $\text{TiO}_2\text{-Cu}$ ont été élaborés avec la douche de répartition des gaz pour une meilleure uniformité. L'élaboration des films s'est faite à partir de deux solutions différentes : une contenant TTIP et l'autre Cu(TMHD)_2 . Seuls, quelques dépôts ont été obtenus en injectant une seule solution contenant les deux précurseurs.

1.1. Précurseurs

Le précurseur de cuivre Cu(TMHD)_2 se dissout très facilement dans le xylène et la solution se conserve très bien dans le temps. Ce précurseur est très soluble ($>1 \text{ mol.L}^{-1}$), néanmoins nous avons travaillé avec une gamme de concentration comprise entre 0,005 à 0,1 mol.L^{-1} .

La concentration de précurseur TTIP était égale à 1 mol.L^{-1} et la fréquence d'injection était de 2 Hz avec un temps d'ouverture de 2 ms. Les paramètres d'injection, de la solution contenant le précurseur de cuivre sont présentés dans le tableau IV-1.

Concentration de la solution $\text{Cu(TMHD)}_2/\text{xylène}$ (mol.L^{-1})	Fréquence d'injection de la solution Cu(TMHD)_2 (Hz)	Temps de dépôt (min)	Fraction molaire de TTIP (%)	Fraction molaire de Cu(TMHD)_2 (%)	Température de dépôt (°C)
0,005 - 0,1	0,5 - 2	2-15	3,04-3,74	0,015 – 0,3	350, 400, 450

Tableau IV-1. Paramètres d'injection des précurseurs de titane et de cuivre.

Le contrôle de la fréquence d'injection et de la concentration de la solution, ainsi que du débit de gaz vecteur (N_2) et oxydant (O_2) permet d'ajuster parfaitement la fraction molaire du précurseur de cuivre. Cela fait l'objet du paragraphe suivant.

1.2. Fraction molaire des précurseurs

De la même façon que pour les dépôts de $\text{TiO}_2\text{-Ag}$, le débit des solutions de précurseurs variait entre 0,7 et 0,9 g.min^{-1} entre les différentes campagnes d'essais. Dans nos conditions opératoires, cette variation correspondait à une variation de débit gazeux dans le réacteur de ± 30 sccm pour une solution et de 7 % sur les fractions molaires respectives de TTIP et Cu(TMHD)_2 . Dans les résultats suivants, le débit moyen (0,8 g.mn^{-1}) a été utilisé pour calculer les fractions molaires de chaque précurseur.

Pour faire varier la teneur en Cu tout en gardant le débit total constant, la concentration de la solution de Cu(TMHD)_2 était ajustée. Pour une fréquence d'injection constante de 2 Hz de la solution contenant Cu(TMHD)_2 , le débit total était de 630 sccm et la fraction molaire de TTIP de $3,04 \cdot 10^{-2}$ (Figure IV-1). Cela a permis de balayer une large gamme de fraction molaire du précurseur de cuivre de $1,52 \cdot 10^{-4}$ à $3,03 \cdot 10^{-3}$ soit plus d'une décade.

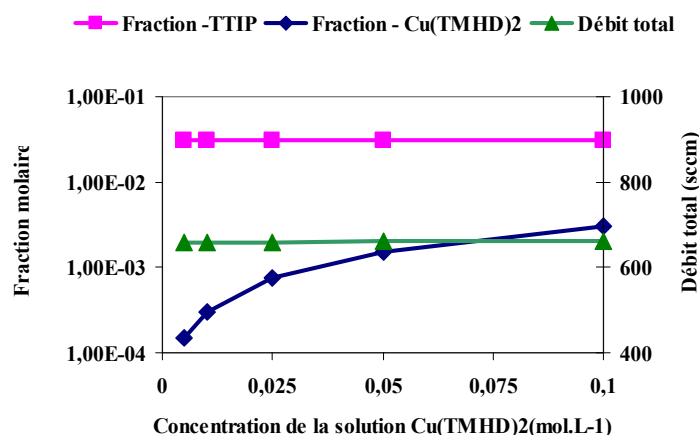


Figure IV-1. Variation des fractions molaires de TTIP et Cu(TMHD)₂ et du débit total en fonction de la concentration de la solution Cu(TMHD)₂. Concentration de la solution TTIP = 1 mol.L⁻¹ et Fréquence = 2 Hz pour chaque précurseur (N₂ = 324 sccm).

La figure IV-2 présente les fractions molaires des différents constituants gazeux présents dans le réacteur pour une solution de Cu(TMHD)₂ concentrée à 0,025 M. L'azote et l'oxygène constituaient près de 55 % de l'atmosphère gazeuse dans le réacteur alors que les précurseurs TTIP et Cu(TMHD)₂ représentaient environ 3 %. La teneur en xylène était de plus de 40 %. Pour rappel, les deux précurseurs utilisaient le même solvant donc il était possible de préparer une seule solution. Dans ce cas, la fraction molaire de xylène était fortement diminuée en passant de 40 à 16 %. Pour conserver un débit total équivalent, le débit d'azote a été augmenté.

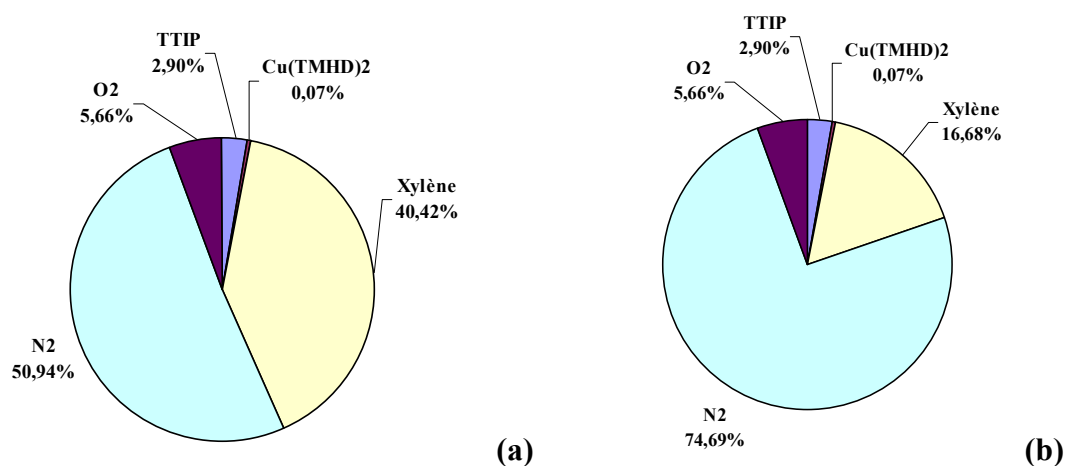


Figure IV-2. Répartition des fractions molaires dans le réacteur lors de l'injection de : (a) 2 solutions (F = 2 Hz chacune) et (b) 1 seule solution contenant les deux précurseurs (F = 2 Hz). Autres conditions : TTIP = 1 mol.L⁻¹ ; Cu(TMHD)₂ = 0,025 mol.L⁻¹.

2. Caractérisations des films minces déposés à 400 °C

2.1. Cinétique de croissance

L'ajout du précurseur de cuivre dans le réacteur modifiait fortement la cinétique de croissance des films. Elle diminuait de 115 nm.min^{-1} (TTIP seul) à 60 nm.min^{-1} quand la fraction molaire de Cu(TMHD)_2 atteignait 0,15 %. Au-delà, la vitesse de croissance semblait se stabiliser (Figure IV-3). Plusieurs hypothèses peuvent expliquer cette chute de cinétique :

- une interaction entre les deux précurseurs dans la phase gazeuse ;
- un mécanisme de décomposition hétérogène des précurseurs interagissants ;
- une concurrence au niveau de l'adsorption des réactifs et/ou la croissance des particules de Cu et de la matrice TiO_2 ;
- un changement de structure de la matrice.

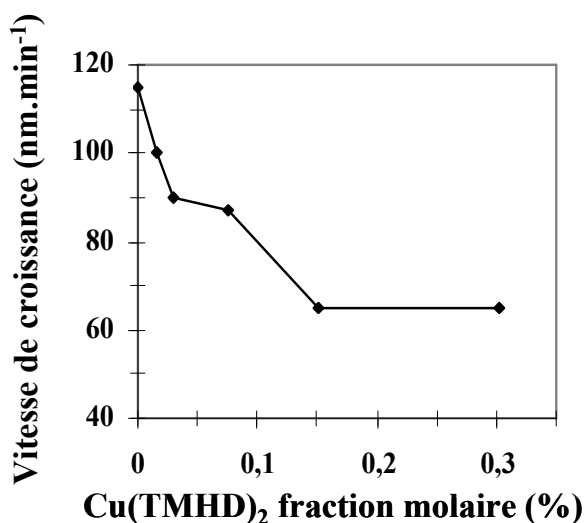


Figure IV-3. Cinétique de croissance des dépôts TiO_2 -Cu en fonction de la fraction molaire du précurseur de cuivre.

2.2. Morphologie des dépôts

Pour une température de dépôt de 400 °C, l'ajout du précurseur de cuivre dans le réacteur influençait fortement la morphologie des dépôts. Cette évolution se voit très bien sur la figure IV-4. Les dépôts ont une structure granulaire qui s'affine avec l'augmentation de la fraction molaire en $\text{Cu}(\text{TMHD})_2$. De cette structure compacte, des agglomérats de particules d'une taille de 50 à 200 nm émergent de la surface lorsque la fraction molaire de $\text{Cu}(\text{TMHD})_2$ augmente. Des évidences indiquent que ce sont des particules de Cu (contraste d'image et analyse ponctuelle EDS).

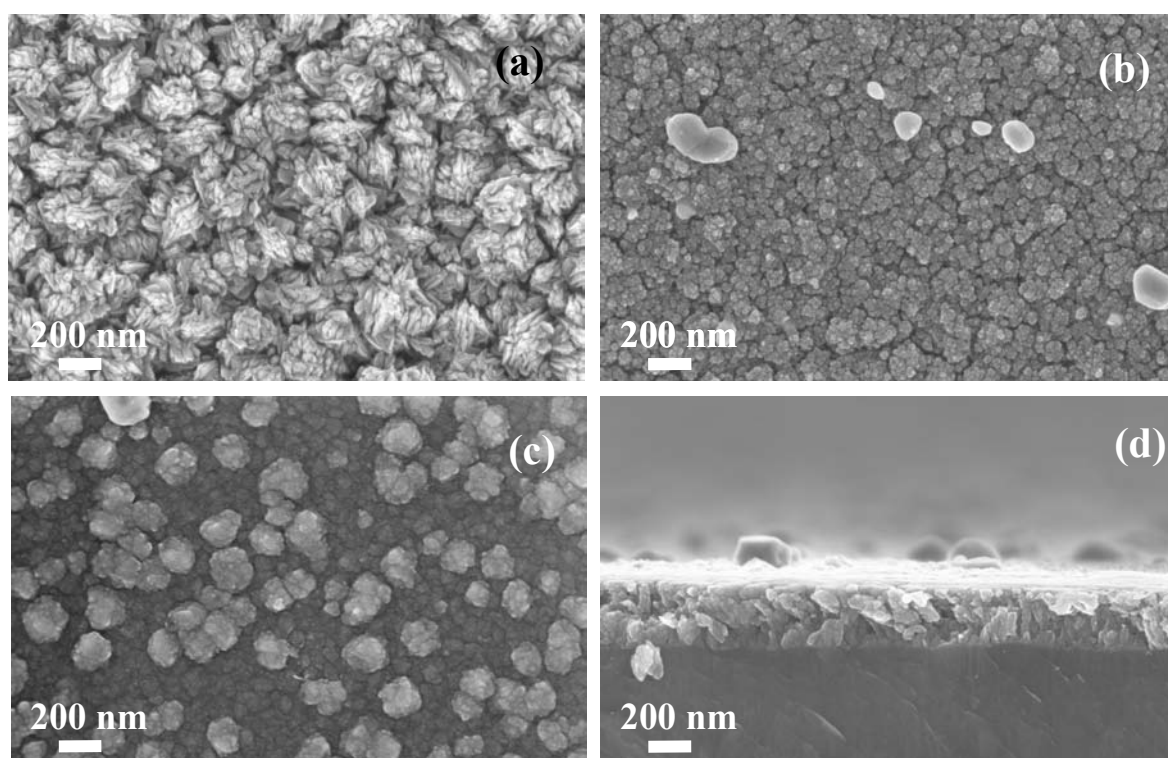


Figure IV-4. Morphologie de dépôts $\text{TiO}_2\text{-Cu}$ sur Si en fonction de la fraction molaire de $\text{Cu}(\text{TMHD})_2$: (a) TiO_2 pur ; (b) 0,076 %, (c) 0,3 % et (d) fractographie de l'échantillon (b).

A partir de ces observations une question se pose : est ce que le cuivre se retrouve uniquement en surface ? Pour répondre à cette question, des observations MET et des profils SIMS ont été menés ; ils sont décrits dans le paragraphe suivant.

2.3. Analyse de la répartition des particules de cuivre dans les films (MET et SIMS)

Les observations MET ont été réalisées sur des grilles en cuivre sur lesquelles du $\text{TiO}_2\text{-Cu}$ était déposé. Ces analyses montrent que le cuivre se présente sous forme de particules nodulaires uniformément réparties, c'est-à-dire sans formation d'agrégats (Figure IV-5).

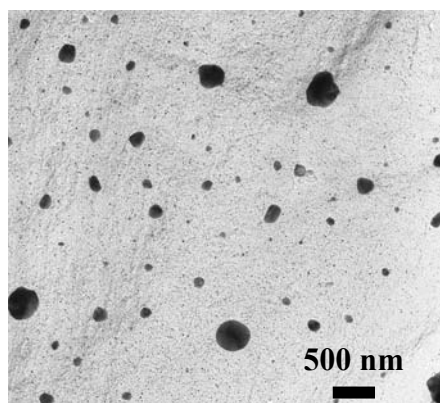


Figure IV-5. Image MET d'un film $\text{TiO}_2\text{-Cu}$ déposé sur le carbone amorphe d'une grille de microscopie. Conditions de dépôt : $\text{Cu(TMHD)}_2 = 0,076 \%$; 400°C ; épaisseur 100 nm.

A partir de l'analyse des images MET, la taille moyenne et la densité de population des particules de cuivre ont été déterminées. Nous avons observé différentes tailles de particules de 20 à 400 nm. Ces tailles étaient comparables aux observations MEB-FEG. Trois familles de particules se distinguaient : de 20 à 100 nm (nanoparticules), de 100 à 250 nm et celles supérieures à 250 nm. Pour trois fractions molaires de Cu(TMHD)_2 , la densité de particules par unité de surface a été déterminée pour chaque population (Figure IV-6).

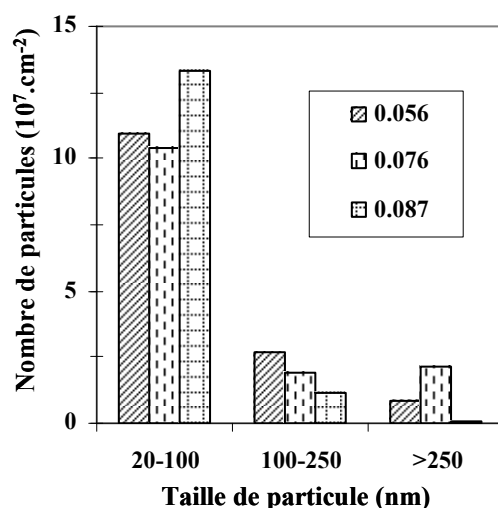
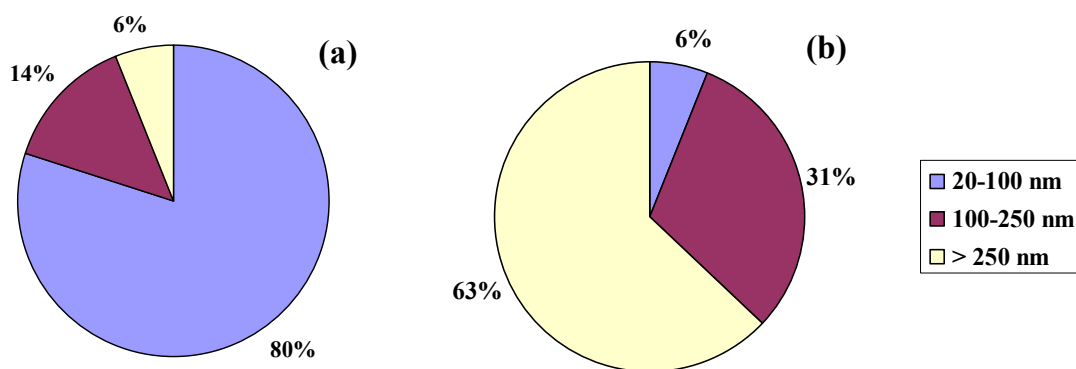


Figure IV-6. Densité de population des particules de cuivre par unité de surface en fonction de la variation de leur taille moyenne (nm) et pour différentes fractions molaires de Cu(TMHD)_2 : 0,056 %, 0,076 % et 0,087 %.

Le nombre insuffisant d'échantillons analysés ne permet pas d'établir une bonne statistique et donc de déterminer une tendance en fonction de la fraction molaire de Cu(TMHD)_2 . Tout au plus celle-ci semble avoir peu d'effet. Par contre tous les films montraient une distribution similaire de taille des particules : les nanoparticules de la première gamme (20-100 nm) représentaient environ 80 % des particules présentes dans le dépôt (10 à $13 \cdot 10^7$ particules. cm^{-2}). Ce chiffre est à comparer avec celui de la fraction volumique du cuivre qu'elles représentent. Pour cela nous avons fait l'hypothèse que toutes les particules sont parfaitement sphériques et pour chaque gamme nous avons une taille moyenne : 60 nm, 175 nm et 300 nm. Pour les nanoparticules, la fraction volumique du cuivre était est seulement de 6 % à comparer aux 80 % qu'elles représentaient en nombre de particules (Figure IV-7). A l'inverse, la population de plus forte taille occupait une fraction volumique de 63 % alors qu'elle ne représentait que 6 % en nombre. Le cuivre se trouve donc majoritairement sous forme de particules supérieures à 250 nm.



Répartition en nombre de chaque catégorie de particule Fraction volumique de chaque catégorie de particule

Figure IV-7. Distribution du nombre de particules et de leur fraction volumique calculée à partir de la taille moyenne de chaque catégorie.

Ces observations au MET ne permettent pas de préciser la distribution du Cu entre la surface et le cœur du film. Un profil SIMS d'un dépôt $\text{TiO}_2\text{-Cu}$ de 300 nm d'épaisseur montrait qu'il était présent dans toute l'épaisseur avec un enrichissement près de la surface probablement dû à la présence de ces particules supérieures émergeantes de la surface (Figure IV-8).

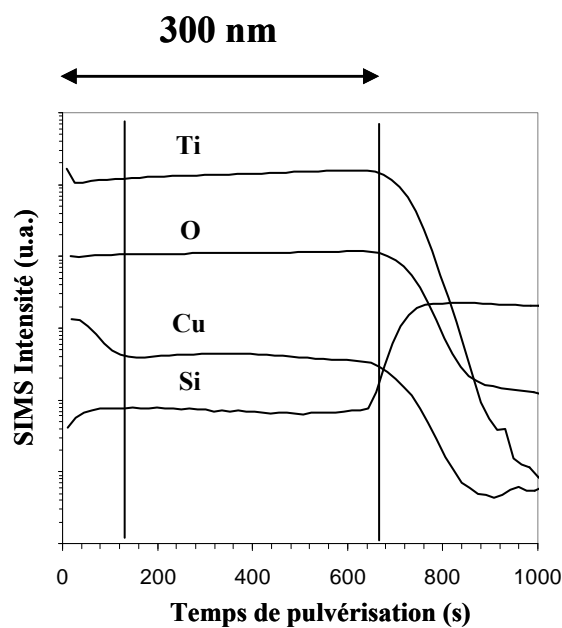


Figure IV-8. Profil SIMS d'un dépôt $\text{TiO}_2\text{-Cu}$ sur Si de 300 nm d'épaisseur (Fraction molaire de $\text{Cu}(\text{TMHD})_2 = 0,076 \%$).

Les rapports entre les différents éléments (Ti, Cu, O) étaient réguliers sur toute l'épaisseur (300 nm), excepté près de la surface. L'épaisseur de cette couche superficielle enrichie en cuivre était d'environ 50 nm. Avant de quantifier la teneur en Cu dans nos dépôts, la structure cristalline de ces particules et de la matrice TiO_2 a été identifiée.

2.4. Structure cristalline des dépôts

Les pics de diffraction étaient significatifs et permettaient d'identifier la présence de dioxyde de titane sous forme anatase et du cuivre métallique cristallisé sous la forme cubique faces centrées. Les autres pics correspondaient au substrat qui, ici, était du silicium. La présence éventuelle des pics de diffraction d'un oxyde de cuivre (Cu_2O ou CuO) n'était pas détectée par diffraction de RX (Figure IV-9).

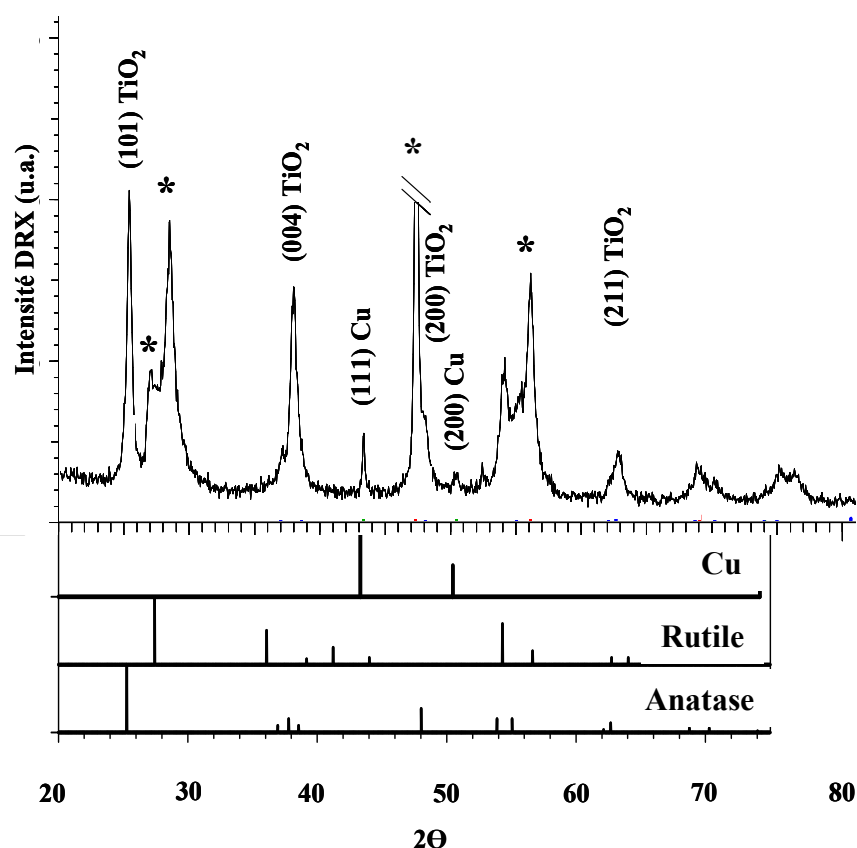


Figure IV-9. Diffraction des rayons X en incidence rasante d'un dépôt TiO_2 -Cu. Conditions de dépôt : $\text{Cu(TMHD)}_2 = 0,076 \%$; 400°C ; 300 nm d'épaisseur. Les pics pointés d'un astérisque correspondaient au substrat.

2.4.1. Structure des particules de cuivre

La sensibilité modérée de l'analyse par diffraction des RX ne permettait pas d'affirmer que de l'oxyde de cuivre n'était pas présent. Pour s'en assurer, des analyses XPS ont été conduites. Avant décapage ionique (Ar^+) l'oxyde CuO était détecté en surface mais après un bombardement ionique de quelques minutes, il disparaissait et le pic $\text{Cu } 2p_{3/2}$ était positionné à 934,8 eV. La difficulté était de différencier le mono-oxyde Cu_2O et le Cu métallique car cette énergie de liaison était quasiment commune aux deux. Usuellement le paramètre Auger permet cette différenciation mais la trop faible intensité des pics n'a pas permis de conclure (n'oublions pas qu'il s'agit de nanoparticules de Cu dans une matrice relativement isolante, ce qui génère des décalages d'énergie de liaison).

Le MET a permis de faire cette distinction en calculant le paramètre de maille (Figure IV-10). La valeur trouvée de 0,3615 nm confirmait la structure CFC du métal, par contraste avec celui de Cu_2O qui était de 0,4245 nm. Nous pouvons donc conclure que le cuivre est uniquement présent sous forme métallique dans le dépôt.

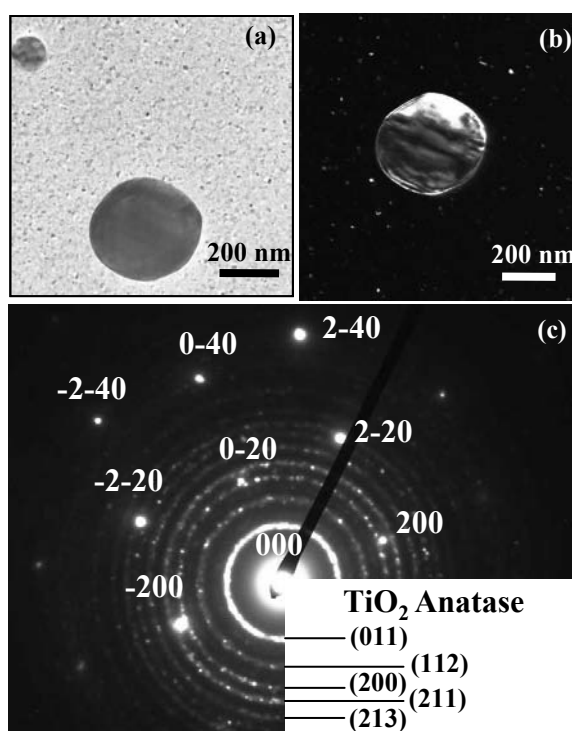


Figure IV-10. Analyse MET de particules de Cu d'un dépôt $\text{TiO}_2\text{-Cu}$: a) image en fond clair ; b) image en fond sombre générée à partir d'un spot du cliché de diffraction (c). Conditions de croissance : $\text{Cu}(\text{TMHD})_2 = 0,076 \%$; 400°C , 300 nm d'épaisseur.

2.4.2. Structure du dioxyde de titane

TiO₂ est cristallisé sous la forme anatase. Pour une faible fraction molaire de Cu(TMHD)₂, inférieure ou égale à 0,08 %, la taille moyenne des cristallites de TiO₂ déduite de la largeur à mi-hauteur du pic (101) augmentait avec l'épaisseur du dépôt jusqu'à la valeur optimale d'environ 40 nm pour une épaisseur de 100 nm (Figure IV-11). Cette évolution est assez classique pour des dépôts élaborés par CVD.

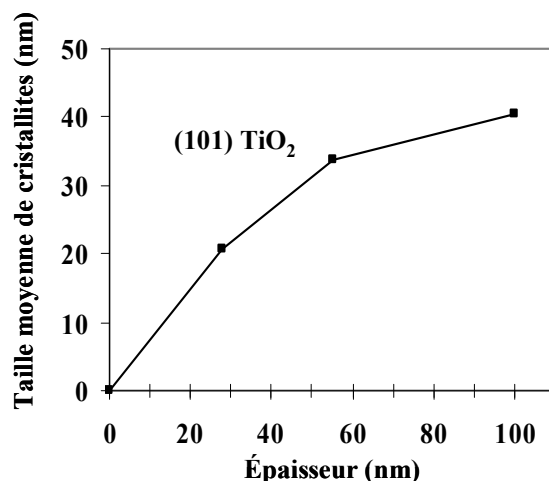


Figure IV-11. Influence de l'épaisseur d'un film TiO₂-Cu sur la taille moyenne des cristallites de TiO₂ anatase (101). Fraction molaire de Cu(TMHD)₂ = 0,076 % ; 400 °C.

La structure cristalline de TiO₂ et la taille moyenne des cristallites TiO₂ était influencées par la fraction molaire de Cu(TMHD)₂, donc par la teneur en Cu des films. Le premier changement notable a été l'apparition de rutile pour une fraction molaire égale ou supérieure à 0,15 % (Figure IV-12). La température de dépôt, les écoulements gazeux et la fraction molaire de TTIP étant constants, ce changement de structure était uniquement dû à l'augmentation de la fraction molaire de Cu(TMHD)₂. Pour les faibles quantités de Cu incorporées seule l'anatase était formée. Par contre, de fortes quantités de Cu favoriseraient l'apparition de cette phase rutile qui est thermodynamiquement la plus stable puisque le diagramme de phase Ti-O prévoit cette transformation anatase-rutile vers 800 °C [193]. Toutefois, entre 400 et 1000 °C le rutile est plus stable que l'anatase de seulement 4 kJ/mole [194]. De plus, en croissance cristalline, la nucléation hétérogène sur la surface d'un substrat est généralement responsable d'un abaissement de cette température de transformation de

phase. C'est donc à ce niveau que préférentiellement on doit rechercher les causes de nos observations.

La transformation anatase-rutile a fait l'objet d'études antérieures [195-197] dont il ressort que certains métaux favorisaient la nucléation du rutile à basse température. Des contraintes de tension dans les dépôts induites par une contraction du réseau cristallographique inhiberaient la transformation [198]. La formation de rutile peut aussi être favorisée par une accommodation épitaxiale, *via* par exemple la formation d'oxydes intermédiaires comme ce fut montré avec SnO_2 [199].

Le mécanisme déduit de ces travaux implique une contraction du réseau et un réarrangement coopératif des ions Ti^{4+} et O^{2-} . En effet, le changement de structure anatase-rutile implique une réduction de volume d'environ 8 %. Ceci se produit par une distorsion du réseau d'oxygène et un décalage des ions Ti^{4+} jusqu'à rupture de deux des six liaisons Ti-O de l'anatase pour former les nouvelles liaisons Ti-O caractéristiques du rutile. Ainsi, des lacunes d'oxygène accélèrent la transformation en favorisant la mobilité des atomes. Le dopage cationique par des ions de valence inférieure à +4 induit aussi des lacunes d'oxygène pour compenser les charges et favorise de ce fait la transformation.

En augmentant la quantité de Cu dans les films, le pic de diffraction des plans (004) de l'anatase devient plus intense au détriment des plans (200) anatase. Ainsi, les films qui n'ont pas de texture apparente lorsque le cuivre n'est pas détecté, ils sont alors monophasé anatase, voient leur microstructure présenter une orientation préférentielle selon les plans (004) lorsqu'ils deviennent biphasés anatase-rutile. Comme évoqué ci-dessus, la compétition entre la nucléation de l'anatase et du rutile implique beaucoup de paramètres parmi lesquels les énergies de surface des différentes faces en croissance ne sont pas les moindres. Il n'est pas surprenant que des orientations cristallographiques de l'anatase résistent mieux que d'autres générant *in fine* une texturation qui n'existait pas au départ.

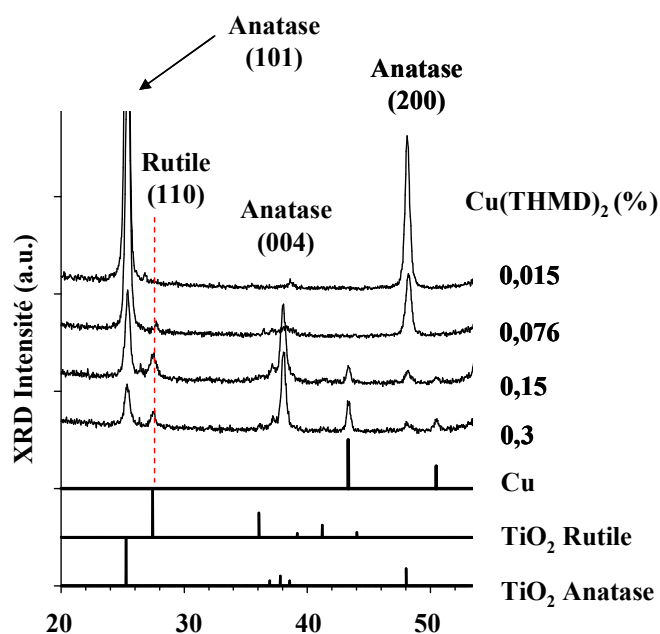


Figure IV-12. Diagramme de diffraction RX de dépôts TiO₂-Cu montrant l'apparition de rutile lorsque la quantité de Cu augmente (150-200 nm d'épaisseur ; température de dépôt 400 °C).

Outre le changement de structure et de texture, l'augmentation de la fraction molaire de Cu(TMHD)₂ réduit aussi la taille moyenne des cristallites de TiO₂ anatase et rutile (Figure IV-13). Pour favoriser la croissance de cristaux, il faut une mobilité de surface importante des espèces adsorbées. Le co-dépôt de Cu bloque probablement la diffusion de surface des espèces nourricières à base de titane. Cela favorise la nucléation de TiO₂ au détriment de la croissance. En conséquence, l'augmentation de la fraction molaire de Cu(TMHD)₂ (et donc vraisemblablement de la teneur en Cu des dépôts) diminue la taille moyenne des cristallites de TiO₂, que ce soit l'anatase ou le rutile.

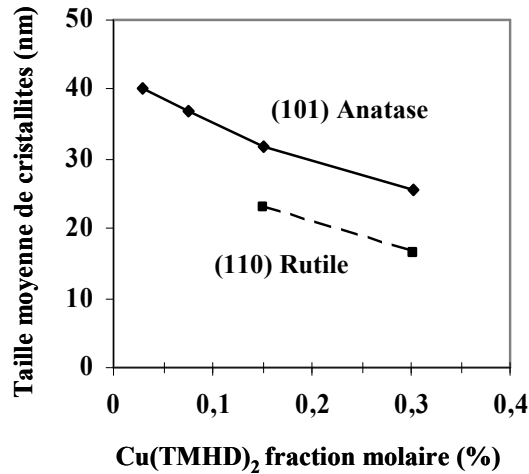


Figure IV- 13. Influence de la fraction molaire de Cu(TMHD)₂ sur la taille moyenne des cristallites de TiO₂ anatase (101) et rutile (110). Les films ont une épaisseur d'environ 150-200 nm.

Cette hypothèse suggère que la teneur en Cu des films augmente avec la fraction molaire de Cu(TMHD)₂. Une confirmation est donnée par l'augmentation du rapport d'intensité des pics de diffraction du Cu/anatase avec la quantité de Cu(TMHD)₂ injectée. Cette figure IV-14 montre aussi que la formation de rutile est significative dès que la présence de Cu est détectée.

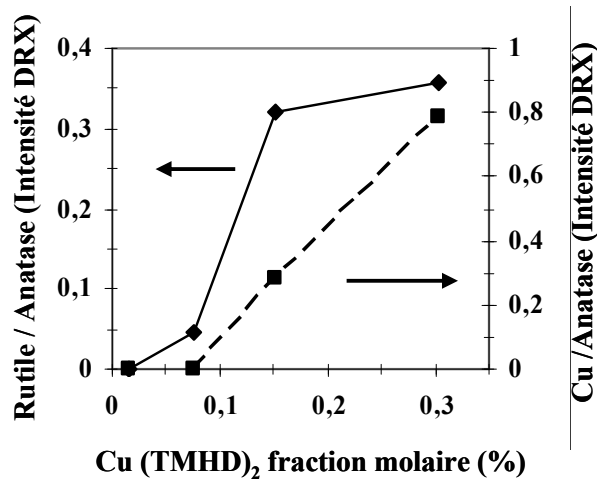


Figure IV-14. Influence de la fraction molaire de Cu(TMHD)₂ sur le rapport d'intensité des pics de diffraction RX (110)rutile / (101)anatase et (111)Cu / (101)anatase. Conditions de dépôt : 400 °C, 150-200 nm d'épaisseur.

2.5. Teneur en cuivre des films composites $\text{TiO}_2\text{-Cu}$

Nous avons vu dans le paragraphe précédent qu'une corrélation apparaissait entre la fraction molaire de Cu(TMHD)_2 et l'intensité du pic de diffraction du cuivre. Mais pour tenter de déterminer la teneur réelle en cuivre, des analyses XPS ont été conduites. La figure IV-15 montre un spectre global d'un film $\text{TiO}_2\text{-Cu}$. Tous les pics ont été identifiés ; aucune impureté n'a été trouvée hormis du carbone en surface dû à la contamination atmosphérique.

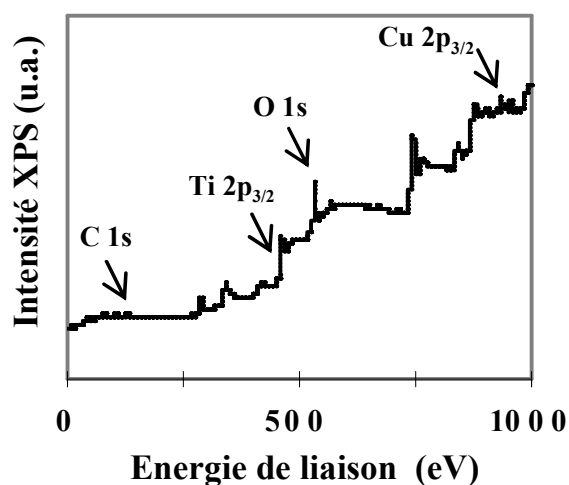


Figure IV-15. Spectre XPS général d'un film $\text{TiO}_2\text{-Cu}$. Conditions de dépôt : $\text{Cu(TMHD)}_2 = 0,076 \%$; 400°C ; épaisseur 300 nm.

La position des pics du titane ($\text{Ti } 2p_{3/2}$) et de l'oxygène ($\text{O } 1s$) était respectivement de 459,0 et 530,8 eV. Ces positions montrent que le degré d'oxydation du titane était 4+ et qu'il était présent sous forme de TiO_2 . Pour le cuivre, il était sous forme métallique (Figure IV-15).

Nous avons déjà vu par SIMS, que la surface semblait enrichie en cuivre. Ceci est confirmé par analyse XPS après différents temps de décapage par des ions (Ar^+) (Figure IV-16).

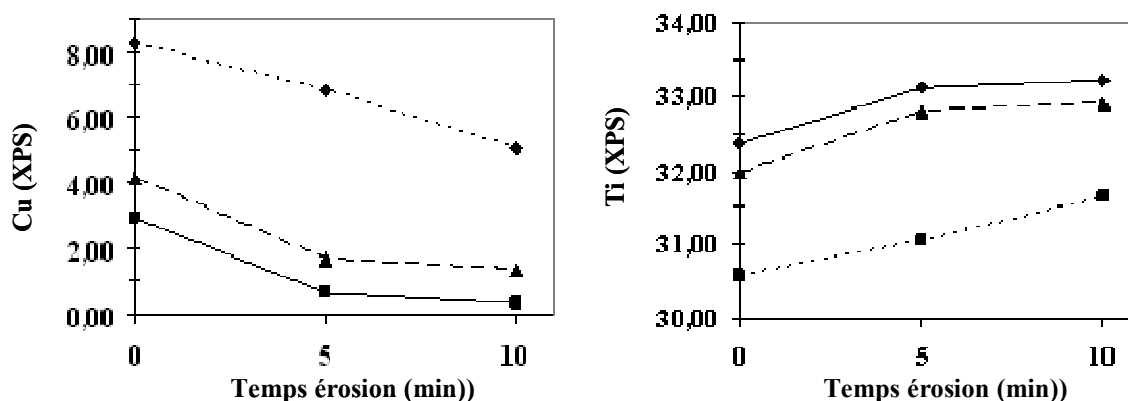


Figure IV-16. Variation de la teneur atomique en Cu (a) et Ti (b) d'un film TiO₂-Cu déterminée par XPS en fonction du temps de décapage ionique (épaisseur du film 100 nm). Conditions de dépôt : fraction molaire de Cu(TMHD)₂ 0,041 % (■) ; 0,053 % (▲) ; 0,084 % (◆).

Pour une fraction molaire de Cu(TMHD)₂ de 0,08 %, la teneur en cuivre est de plus de 8 % at. en surface et chute à 5 % at. après 10 minutes d'abrasion ionique. Cette chute était compensée par l'augmentation de la teneur en titane. Ces analyses confirment que l'enrichissement en Cu est probablement dû aux particules émergeant de la surface. Plus la fraction molaire de Cu(TMHD)₂ est importante, plus la teneur en Cu des films augmente.

Pour les deux autres fractions molaires, les mêmes tendances apparaissent avec une stabilisation de la teneur en Cu à partir de 10 minutes de décapage, qui pourrait donc être caractéristique de la teneur des films. Il est difficile de connaître précisément l'épaisseur érodée, mais elle ne doit pas dépasser une dizaine de nanomètres. Dans la figure IV-16, la teneur en Cu est prise pour un temps d'érosion de 10 minutes. La relation entre la fraction molaire de Cu(TMHD)₂ et la composition atomique en Cu des dépôts TiO₂-Cu apparaissait bien corrélée à la teneur relative en Cu déduite des diffractogrammes de RX (Figure IV-17). L'évolution de la teneur en cuivre n'était pas linéaire avec la fraction molaire. Un seuil de fraction molaire (0,03 %) était nécessaire pour incorporer une quantité détectable de Cu dans la matrice TiO₂. Ensuite cette teneur augmentait très rapidement jusqu'à atteindre environ 5 at. % pour une fraction molaire de Cu(TMHD)₂ de 0,08 %.

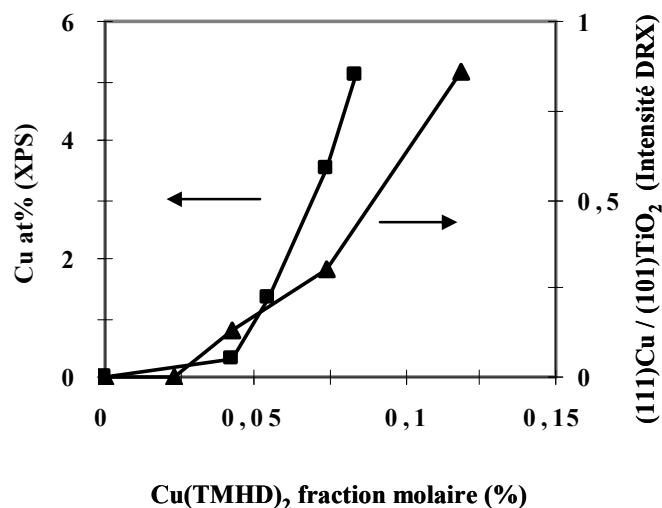


Figure IV-17. Variation de la teneur en Cu (à gauche) et du rapport d'intensité des pics de diffraction RX (111)Cu/(101)TiO₂ (à droite) en fonction de la fraction molaire de Cu(TMHD)₂. Conditions de dépôt : 400 °C ; 150-200 nm d'épaisseur ; la fraction molaire était contrôlée par la concentration de la solution et par la fréquence d'injection.

Cette évolution a été confirmée par des analyses EDS pour 3 séries d'échantillons mais avec un seuil de fraction molaire de Cu(TMHD)₂ qui est moins évident en raison des différences de sensibilité (Figure IV-18).

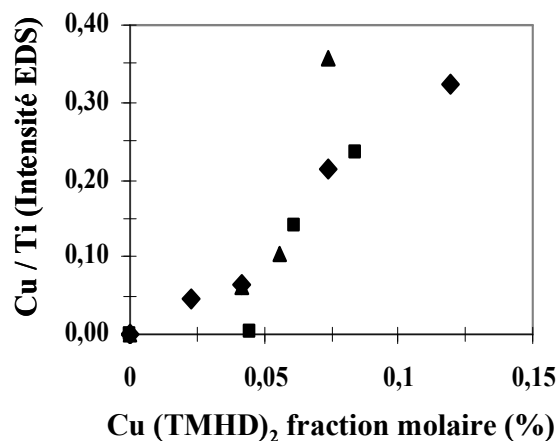


Figure IV-18. Corrélation entre la fraction molaire de Cu(TMHD)₂ et le rapport des intensités EDS Cu/Ti de films TiO₂-Cu. Conditions de dépôt : concentration de Cu(TMHD)₂ 0,025 mol.L⁻¹ (▲) ; 0,025 mol.L⁻¹ (◆) ; 0,05 mol.L⁻¹ (■).

2.6. Elaboration de films $\text{TiO}_2\text{-Cu}$ à partir d'une seule solution (TTIP et $\text{Cu}(\text{TMHD})_2$) dans du xylène

Comme nous l'avons vu dans la figure IV-2, l'utilisation d'une seule solution demande à compenser une partie du débit gazeux de xylène par de l'azote pour conserver un débit total constant. L'utilisation d'une seule solution ne modifie ni la cinétique de croissance ni la structure du dépôt. La différence de quantité de solvant xylène ne semble pas altérer la croissance du film. La teneur relative en Cu analysée par EDS donne un rapport Cu/Ti de 0.25, ce qui est équivalent au procédé double injection précédent.

Les spectres de diffraction des rayons X sont quasi identiques pour les deux procédés de dépôt pour une même fraction molaire de $\text{Cu}(\text{TMHD})_2$ (Figure IV-19). De même, la morphologie de deux dépôts était assez similaire. Tout au plus, celui provenant d'une seule solution de précurseurs semble plus colonnaire (Figure IV-20).

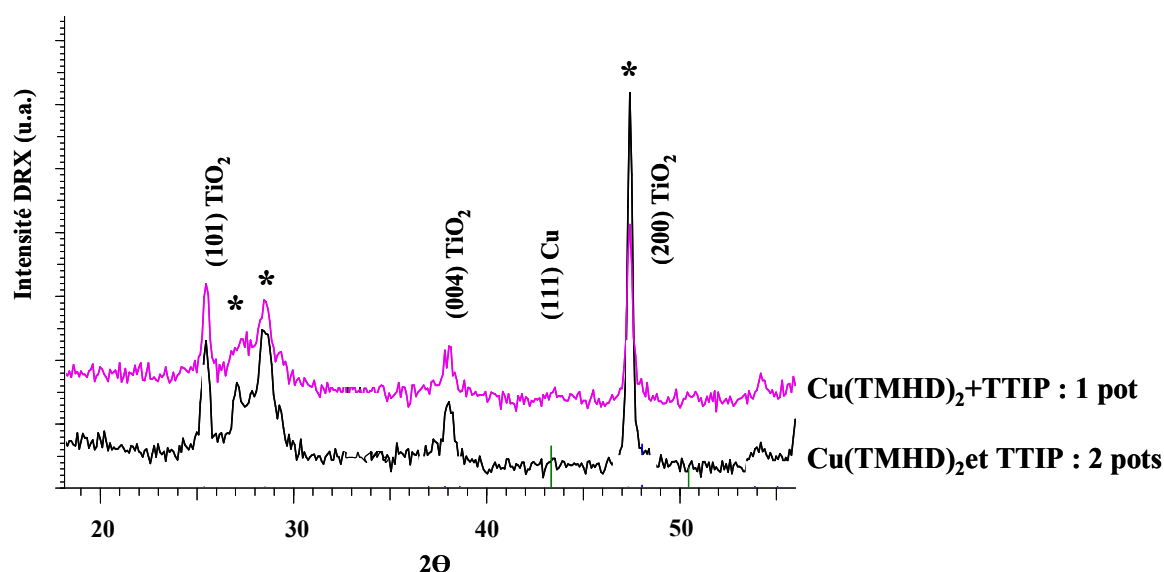


Figure IV-19. Diagrammes de diffraction des RX en $\Theta\text{-}\Theta$ de dépôts $\text{TiO}_2\text{-Cu}$ de 300 nm d'épaisseur élaborés en injectant les réactifs séparément ou dans la même solution (* = substrat Si).

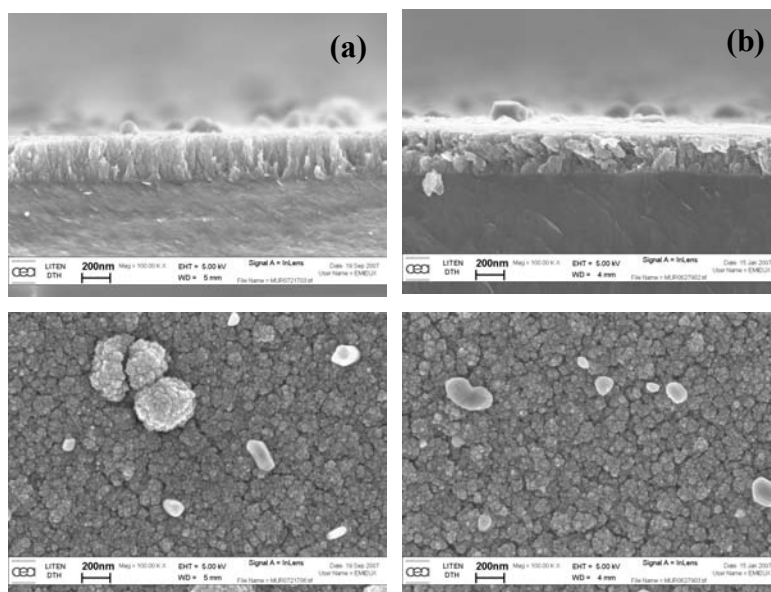


Figure IV-20. Micrographies de dépôts $\text{TiO}_2\text{-Cu}$ sur Si en coupe et en surface : (a) un seul container d'injection pour la solution $\text{Cu(TMHD)}_2\text{+TTIP}$; (b) injection séparée des réactifs (fraction molaire de $\text{Cu(TMHD)}_2 = 0,076 \%$).

3. Influence de la température de dépôt

Quelle est l'influence de la température de dépôt sur la cinétique de croissance et la structure cristallographique ? Pour cela des dépôts ont été élaborés à 350, 400 et 450 °C pour les mêmes fractions molaires des deux précurseurs (Figure IV-21).

La cinétique de croissance diminuait avec une augmentation de la température. Cette tendance était contraire à notre attente car, que ce soit dans le cas d'un dépôt de TiO_2 pur ou de cuivre pur, la vitesse de dépôt est thermiquement activée dans la gamme de température étudiée [57]. La croissance des dépôts composites est donc beaucoup plus complexe avec notamment des interactions possibles entre les précurseurs.

Ces interactions chimiques se produisaient vraisemblablement avant la surface du substrat et se traduiraient par un appauvrissement de la phase gazeuse réactive, soit par nucléation en phase homogène soit par interaction avec les parois (douchette, canalisations, réacteur). La faible énergie d'activation estimée à 32 kJ.mol^{-1} indique bien que le procédé n'est pas contrôlé par la cinétique chimique ce qui serait compatible avec cette hypothèse. De

même, les réactions prématurées de Cu(TMHD)_2 entraînent un abaissement de la teneur relative en Cu des films lorsque la température augmente (Figure IV-21).

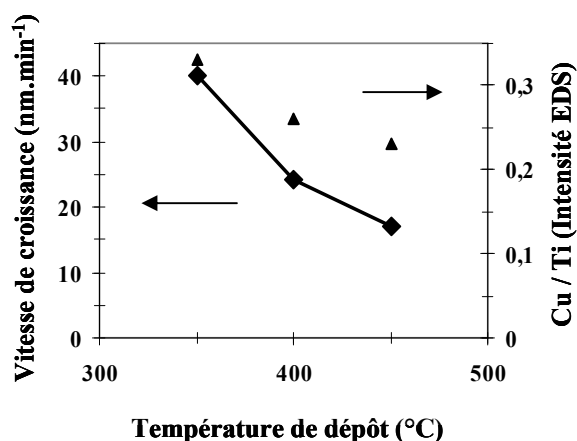


Figure IV-21. Effet de la température sur la cinétique de croissance de films et sur le rapport de Cu/Ti mesuré par analyse EDS (fraction molaire de $\text{Cu(TMHD)}_2 = 0,076 \%$).

La figure IV- 22 montre l'effet de la température sur la morphologie des dépôts. A basse température (350 °C), le dépôt $\text{TiO}_2\text{-Cu}$ est très compact et sans particule apparente de Cu en surface. Au-delà de 400 °C, la croissance tend à être plus colonnaire et des particules de Cu relativement grosses émergent de la surface.

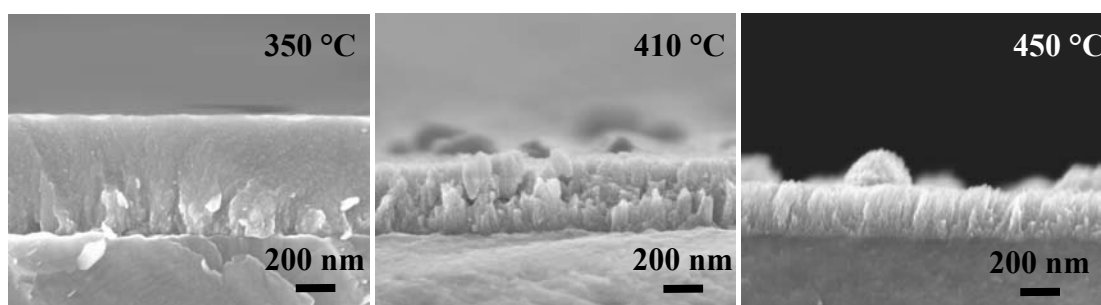


Figure IV-22. Morphologies des films $\text{TiO}_2\text{-Cu}$ en fonction de la température du dépôt : 350 °C (à gauche) ; 400 °C (au centre) ; 450 °C (à droite) pour une fraction molaire $\text{Cu(TMHD)}_2 = 0,076 \%$.

L'analyse en DRX confirme la structure cristalline anatase de TiO_2 . Avec la faible fraction molaire de Cu(TMHD)_2 de 0,076 % la phase rutile n'est pas détectée dans la gamme de température étudiée ($\leq 450 \text{ °C}$). Bien que le film déposé à 400 °C soit plus mince (360 nm) qu'à 350 °C (600 nm), les pics de diffraction de l'anatase sont plus intenses à 400 °C, ce qui

reflète une meilleure cristallinité. Par contre, les pics de Cu n'étaient pas détectés car la teneur est trop faible pour ces dépôts (Figure IV-23).

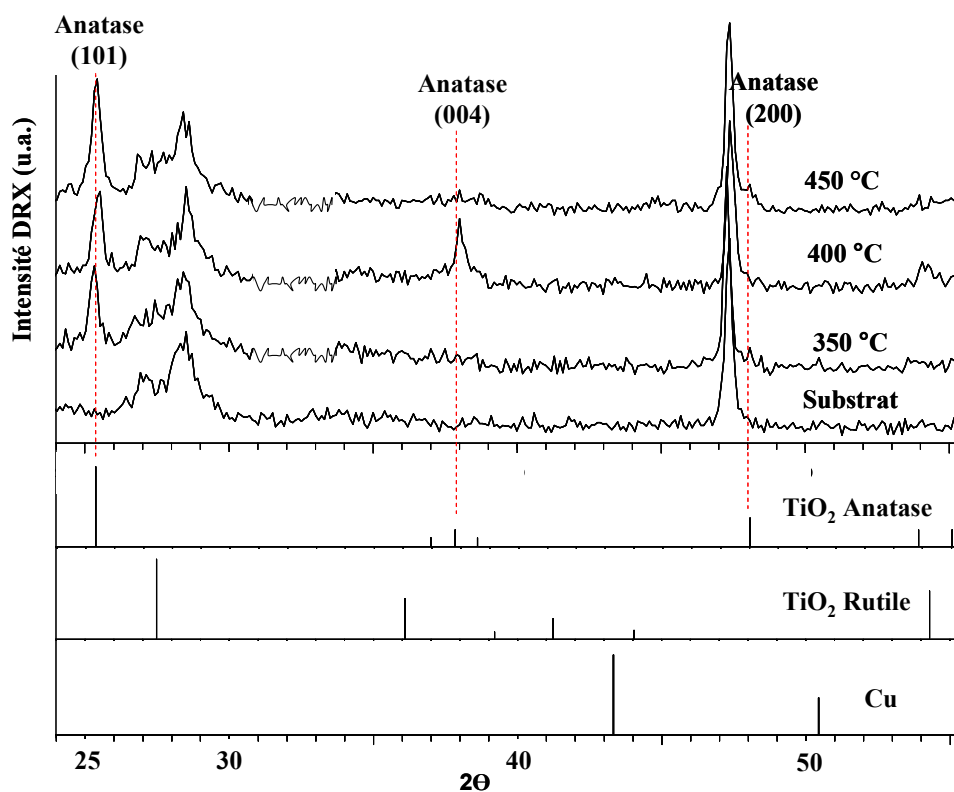


Figure IV-23. Diagrammes de diffraction des RX (incidence rasante 1°) de films TiO₂-Cu déposés à : (a) 350 °C (600 nm) ; (b) 400 °C (360 nm) et (c) 450 °C (280 nm). Fraction molaire de Cu(TMHD)₂ = 0,076 %. Les pics marqués d'un astérisque sont dus au substrat.

4. Activité antibactérienne

Après avoir décrit la morphologie, la structure et la composition des dépôts $\text{TiO}_2\text{-Cu}$, nous avons étudié leur comportement antibactérien en nous focalisant principalement sur l'influence de la teneur en Cu.

4.1. Influence de la fraction molaire du précurseur de cuivre

La figure IV-24 présente l'activité antibactérienne (test JIS Z 2801) des dépôts $\text{TiO}_2\text{-Cu}$ en fonction de la fraction molaire de Cu $(\text{TMHD})_2$. Une activité antibactérienne apparaissait pour une fraction molaire supérieure à 0,03 %. Ce seuil de fraction molaire était le même que celui au-delà duquel le Cu était détecté par les techniques analytiques mises en œuvre (Figure IV-17). Au-delà de ce seuil, l'activité croissait très rapidement pour devenir bactéricide pour une fraction molaire de 0,15 %. Pour rappel, une activité bactéricide correspond à une diminution du nombre de colonies de *S. aureus* d'environ 7 log en moins de 24 h.

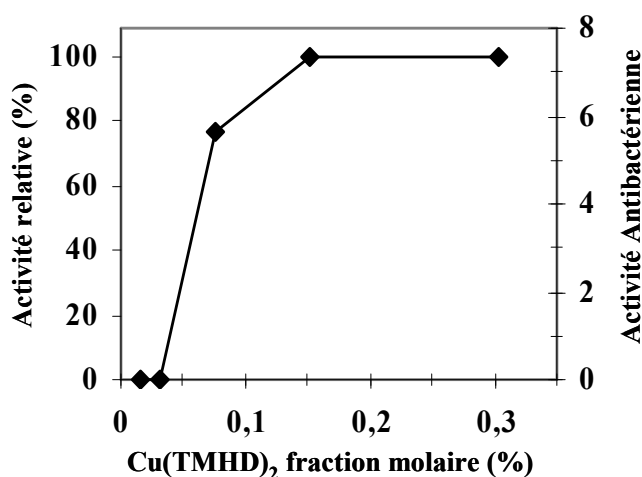


Figure IV-24. Influence de la fraction molaire de $\text{Cu}(\text{TMHD})_2$ sur l'activité antibactérienne (*S. aureus*) de films $\text{TiO}_2\text{-Cu}$ de 150-200 nm d'épaisseur : activité antibactérienne standard (à droite) et relative (à gauche).

La zone de transition d'inactif à bactéricide est donc abrupte. Au vu de ce résultat, il paraît difficile de contrôler l'activité de ces films dans le domaine bactériostatique, mais ce n'était pas l'un de nos objectifs d'avoir une transition progressive puisque c'est un

comportement bactéricide qui était envisagé. Notons que pour la fraction molaire de 0,15 % la phase cristalline rutile du TiO_2 était détectée dans le dépôt.

D'autres essais ont été menés dans ce domaine «inactif à bactéricide», et les résultats ont confirmé cette transition soudaine pour une fraction molaire de Cu(TMHD)_2 de 0,05 à 0,075 % avec une bonne reproductibilité (Figure IV-25). Pour les deux séries de cette figure, TiO_2 était uniquement cristallisé sous sa forme anatase. Cette zone de transition correspond à une teneur en Cu de 1 à 3,5 at. % (analyse XPS).

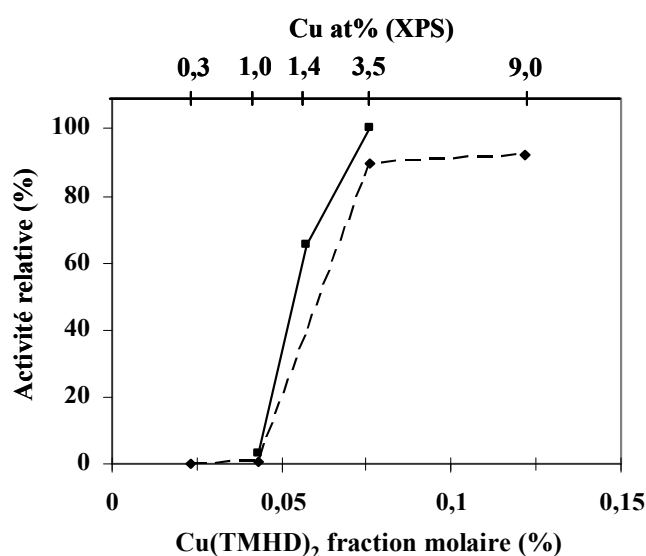


Figure IV-25. Influence de la fraction molaire de Cu(TMHD)_2 sur l'activité antibactérienne de films TiO_2 -Cu d'environ 100 nm d'épaisseur (test JIS Z 2801 avec *S. aureus*) pour deux séries élaborées dans les mêmes conditions à 2 mois d'intervalle. L'échelle de l'abscisse supérieure n'est pas linéaire ; elle indique simplement la teneur atomique en Cu des films déduite des analyses XPS.

4.2. Effet de l'épaisseur

La fraction molaire de Cu(TMHD)_2 est un paramètre essentiel pour contrôler la teneur en cuivre dans les films et donc l'activité antibactérienne. Un autre paramètre, un peu plus inattendu est l'influence de l'épaisseur des films. L'activité antibactérienne croissait avec celle-ci de façon significative. Ainsi, elle augmentait de 40 à 100 % entre 30 et 110 nm d'épaisseur pour une fraction molaire de 0,076 % (Figure IV-26).

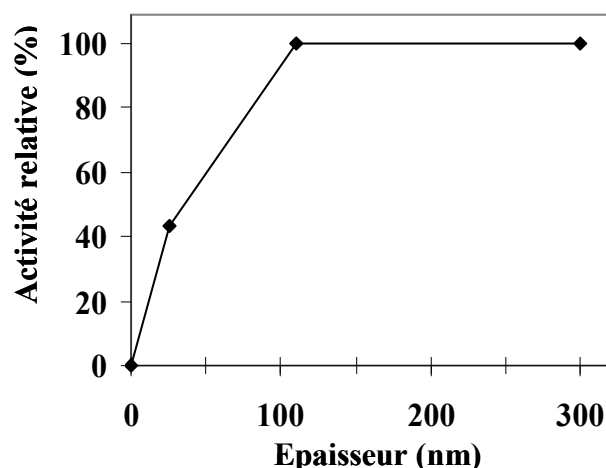


Figure IV-26. Influence de l'épaisseur de films TiO₂-Cu déposés avec une fraction molaire de Cu(TMHD)₂ de 0,076 % sur l'activité antibactérienne (*S. aureus*).

Quelle que soit l'épaisseur, la morphologie restait granulaire. La structure apparaissait plus grossière pour le dépôt le plus épais (300 nm) et semblait plus poreuse (Figure IV-27). Pour rappel, la taille des cristallites de TiO₂ augmente avec l'épaisseur. Les particules claires en surface étaient du Cu et ni leur taille ni leur nombre ne semblait dépendre de l'épaisseur.

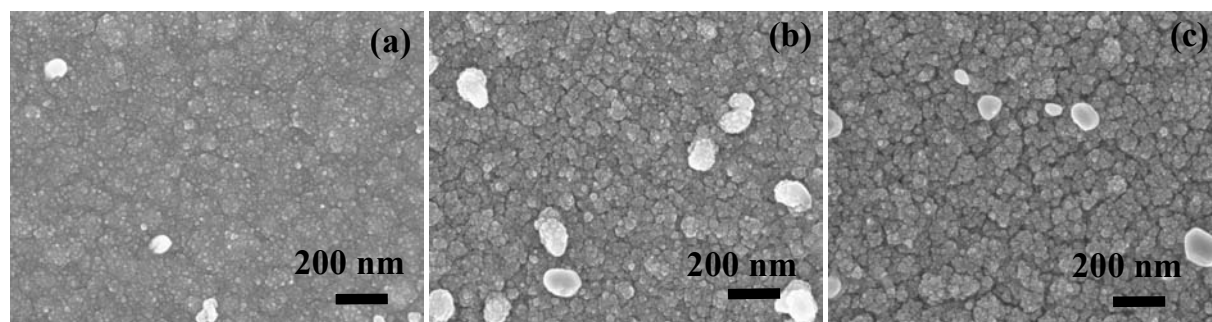


Figure IV-27. Morphologie de dépôts TiO₂-Cu de (a) 30, (b) 100 et (c) 300 nm d'épaisseur.

L'accroissement de la rugosité de surface avec l'épaisseur a conduit à une augmentation de la surface exposée ce qui pourrait être à l'origine de la meilleure activité antibactérienne observée. Le fait que la matrice TiO₂ soit de l'anatase ou du rutile ne semble pas avoir d'importance mais nous n'avons pas étudié suffisamment d'échantillons présentant les autres caractéristiques constantes pour en déduire une statistique fiable. La question du mécanisme d'action reste évidemment posée.

5. Tests antibactériens non standards

Le test japonais a permis d'optimiser les conditions d'élaboration de nos films $\text{TiO}_2\text{-Cu}$ mais dans ce test, le contact entre les bactéries et la surface est imposé par l'utilisation d'un film plastique stérile, et le temps de contact est fixé en l'absence de lumière (entre 18 et 24 h). Dans notre environnement, les conditions étaient très différentes : présence de lumière visible, voire UV (éclairage intérieur). Pour évaluer le potentiel de nos dépôts, nous avons développé en collaboration avec Nosoco.tech® des tests non standards pour se rapprocher de conditions plus réalistes. Avant de tester l'activité de nos films en présence de lumière, nous avons vérifié que ces dépôts $\text{TiO}_2\text{-Cu}$ ne présentaient aucune activité photocatalytique sous irradiation UV. Nous avons ainsi pu vérifier que la présence de Cu lorsqu'elle était détectée inhibait totalement toute activité de dégradation photocatalytique de l'Orange G.

L'angle de contact a également été mesuré pour déterminer le caractère hydrophile des dépôts. Quelle que soit la teneur en Cu l'angle de contact était d'environ 100 degrés et aucune tendance n'apparaissait. Nos dépôts sont étaient légèrement hydrophobes.

5.1. Cinétique de l'activité antibactérienne

Le premier test a consisté à changer le temps de contact pendant le test JIS. En effet, ce test n'était pas capable de différencier l'efficacité entre des surfaces bactéricides à 24 h alors que peut-être elles avaient une efficacité différente pour des temps plus courts. La cinétique de l'activité a donc été étudiée en modifiant le temps de contact pour deux dépôts de 100 nm d'épaisseur contenant des teneurs en Cu différentes (1,3 et 3,5 % at.) en variant le temps de contact de 3 à 24 h (Figure IV-28).

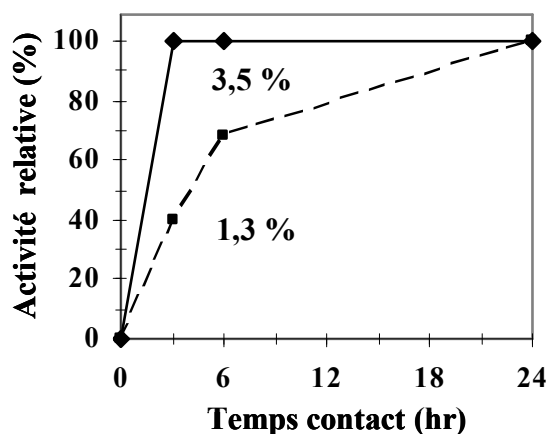


Figure IV-28. Influence du temps de contact (3, 6 et 24 h) sur l'activité antibactérienne de *S. aureus* pour deux teneurs en Cu différentes : (■) 1,3 at. % et (♦) 3,5 at. % déterminée par XPS (épaisseur 100 nm).

Alors que les deux échantillons étaient bactéricides d'après la norme JIS (à 24 h), la cinétique d'activité par contre était différente. Le film avec la plus forte teneur en Cu était déjà bactéricide après 3 h de contact alors que pour une teneur de 1,3 % de Cu, l'activité était seulement de 40 % après 3 h et de 70 % après 6 h de contact. Ce résultat indique que l'activité était fonction du temps de contact des bactéries sur la surface. Comme nous l'avons montré précédemment, l'activité antibactérienne du dépôt était directement liée à la teneur en Cu.

5.2. Test de diffusion

Ce test, inspiré de la norme ISO 20645 (cf. chapitre II.3.4), a été initialement développé pour déterminer l'activité antibactérienne d'un échantillon en mesurant une zone d'inhibition de la croissance des bactéries autour de l'échantillon (Figure II-11). Cette zone d'inhibition met en évidence la diffusion de l'agent antibactérien hors de l'échantillon (à condition qu'il soit soluble dans l'eau du milieu de culture). Dans notre cas, ce test a été utilisé pour démontrer l'absence de diffusion du cuivre ou de ses ions.

Pour cela un échantillon contenant une teneur élevée en Cu (3,5 at. %) a été utilisé et le test ne révélait aucune zone d'inhibition (Figure IV-29). Cette absence de diffusion à grande échelle représentait un résultat très important pour deux raisons :

- cela occasionnerait une faible toxicité ;

- cela garantirait une activité dans le temps sans un appauvrissement rapide en cuivre de la surface puisqu'aucun relargage ne serait observé.

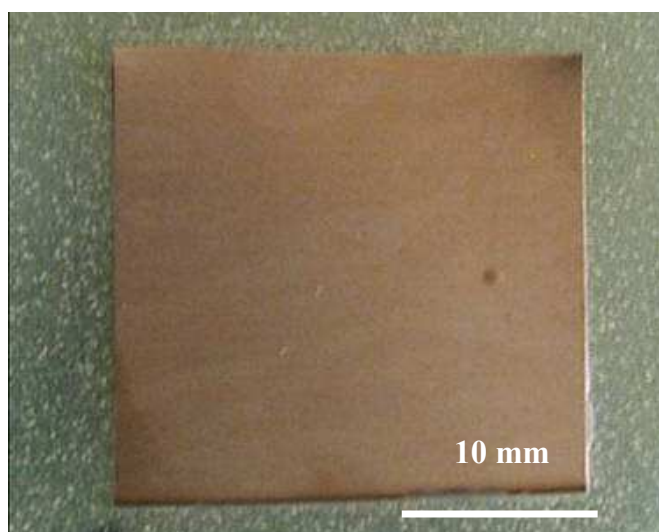


Figure IV-29. Test de diffusion sur un échantillon revêtu de $\text{TiO}_2\text{-Cu}$. Le dépôt est sur la face en contact avec la gélose (la face visible sur la photographie étant la face arrière). Les nombreuses colonies au voisinage de l'échantillon montraient l'absence d'une zone d'inhibition.

5.3. Tests WHK et du brumisateur

Pour ces deux nouveaux tests, deux séries d'échantillons $\text{TiO}_2\text{-Cu}$ ont été préparés. Deux fractions molaires de Cu(TMHD)_2 ont été sélectionnées : 0,076 % (série A) et 0,15 % (série B). Ces deux séries étaient bactéricides envers le *S. aureus* et *E. coli* selon la norme japonaise, c'est-à-dire que l'activité est supérieure à 7 log.

5.3.1. Test WHK

Le test que nous appelons WHK a été proposé par une équipe de Biochimie du Massachusset Institute of Technology [190]. Nous l'avons légèrement adapté en changeant la nature de la souche bactérienne testée et le temps de pulvérisation du spray (cf chapitre II.3.2). Son principe est de pulvériser un aérosol contenant des bactéries pathogènes vers les surfaces. Le nombre de bactéries est mesuré après un temps de contact avec de la gélose. Trois essais identiques ont été conduits afin d'évaluer la reproductibilité sur les échantillons des séries A et B (Tableau IV-3).

N° essai	Echantillons A				Echantillons B			
	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>	
	essai	témoin	essai	témoin	essai	témoin	essai	témoin
1	115	113	-	-	18	113	-	-
2	170	170	Inactif ¹	-	45	170	Actif ²	-
3	101	116	61	60	17	116	0	60

1) Même densité de colonies que sur l'échantillon témoin ;

2) Densité de colonies plus faible sur l'échantillon revêtu que sur le témoin ;

Dans les deux cas 1 et 2 le nombre de colonies est trop important pour être comptabilisé. Le tiret signifie non testé.

Tableau IV-3. Activité antibactérienne exprimée en nombre d'UFC (unités formants colonies) d'après le test WHK de dépôts TiO₂-Cu de 100 nm d'épaisseur élaborés à 400 °C. Influence de la fraction molaire de Cu(TMHD)₂ et donc de la teneur en Cu des dépôts : échantillon A (0,076 %) ; échantillon B (0,15 %).

Pour l'essai n° 1, seule l'activité sur *S. aureus* a été déterminée. Pour le deuxième, il n'a pas été possible de quantifier le nombre de colonies d'*E. coli* car trop de bactéries avaient adhéré sur la surface et trop de colonies étaient présentes pour pouvoir les dénombrer après incubation ; notre appréciation n'est donc que qualitative.

Les résultats des 3 essais étaient homogènes et montraient les mêmes tendances. Pour les échantillons A, aucune activité n'a été détectée, le nombre de colonies sur l'échantillon témoin et sur l'échantillon revêtu était identique. Pour les échantillons B, le nombre de colonies était diminué de 80 % (moyenne des 3 essais). Dans ce test, il y avait compétition entre l'effet antibactérien de la surface et l'apport de nutriments aux bactéries *via* la plaque de gélose. Par ce fait, cet essai était plus discriminant. Pour les échantillons A, l'effet antibactérien de la surface a été démontré avec le test JIS, mais il n'est pas mis en évidence ici à cause de cette compétition entre l'apport de nutriment et l'activité antibactérienne proprement dite. Les bactéries se développent plus vite que la surface les éliminent. Pour les échantillons B, la teneur en Cu et l'activité antibactérienne était plus élevée et la cinétique d'activité antibactérienne était supérieure à celle du développement des bactéries. Ce mécanisme explique la diminution du nombre de colonies détectées sur la surface des échantillons B. La figure suivante explique ce mécanisme de compétition (Figure IV-30).

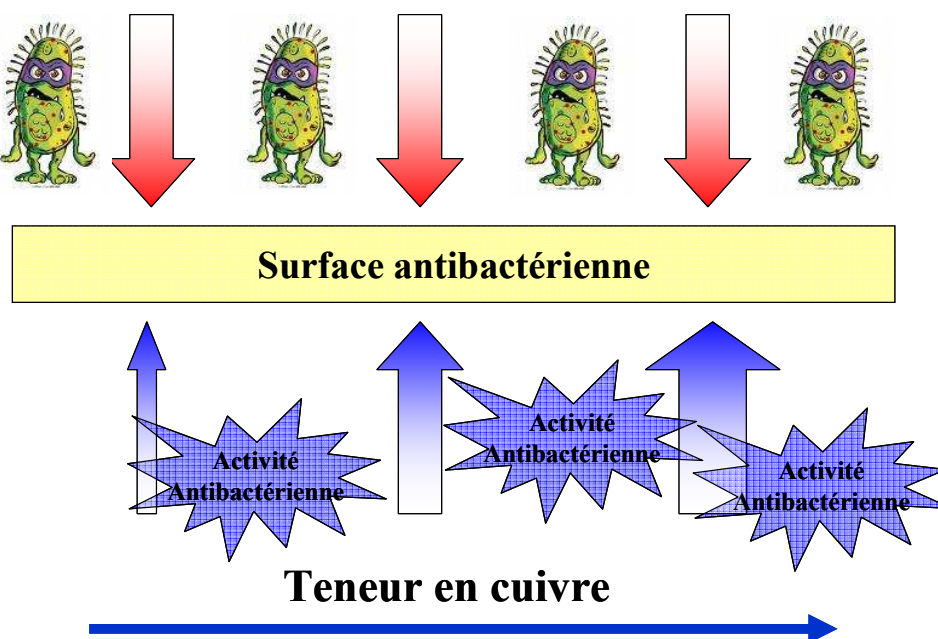


Figure IV-30. Schéma illustrant le mécanisme de compétition entre l'apport de nutriments aux bactéries (*flèches rouges, apport constant de nutriments*) et l'effet antibactérien (*flèches bleues, effet antibactérien croissant*) qui croît avec la teneur en Cu.

5.3.2. Test du brumisateur

Le test du brumisateur mesure l'effet d'adhésion des bactéries sur des échantillons de verre revêtus ou non et leur développement en microcolonies. Un aérosol bactérien est créé 3 fois par jour pendant 10 minutes et cela pendant 3 jours. Ces conditions de brouillard contenant des bactéries sont représentatives de ce qu'on peut trouver dans des milieux humides. Dans ces essais, nous avons employé une souche de *Bacillus* ; cette bactérie est couramment présente dans l'eau mais généralement à des concentrations plus faibles que celle que nous avons utilisée. Cet essai mesure une compétition entre l'activité antibactérienne de la surface d'une part, et l'adhésion et le développement des bactéries d'autre part.

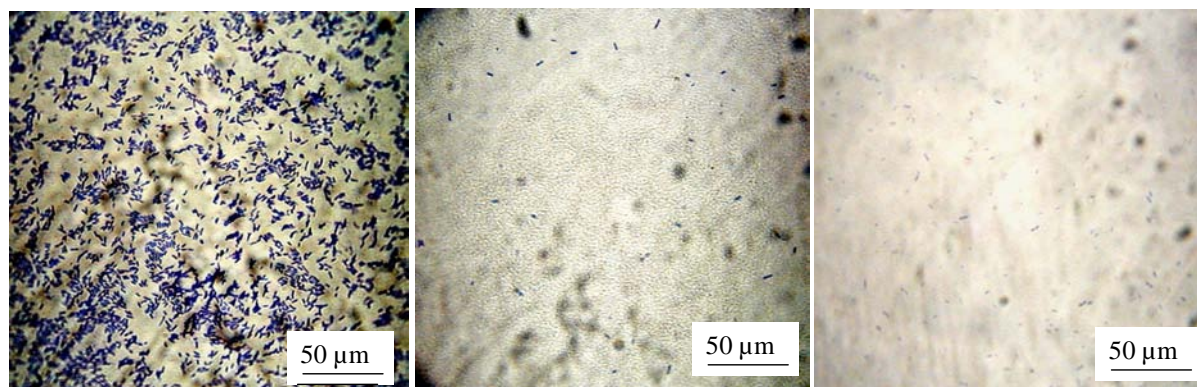


Figure IV- 31. Images des échantillons après la coloration au cristal violet : témoin (à gauche), Dépôt A (au centre) et Dépôt B (à droite) pour lesquelles la fraction molaire de Cu(TMHD)_2 est respectivement 0,076 et 0,15 %. Taille moyenne des bactéries 6-7 μm de long.

La figure IV-31 montre la surface des échantillons pris au microscope optique après coloration au cristal violet. Les *Bacillus* apparaissent en violet. Le résultat est significatif : les bactéries sont très nombreuses sur le témoin (environ 1.4×10^4 bactéries par mm^2) alors que sur les échantillons revêtus de $\text{TiO}_2\text{-Cu}$ pour deux fractions molaires de Cu(TMHD)_2 , on dénombre entre 4×10^2 et 8×10^2 bactéries par mm^2 , soit une baisse de près de 95 %.

Pour analyser ce résultat, il faut d'abord rappeler qu'une coloration au cristal violet ne permet pas de distinguer les bactéries vivantes de celles qui sont mortes. Donc, il n'est pas possible de dire si les bactéries qui se trouvent sur les échantillons revêtus sont vivantes ou non. Les bactéries présentes sur les échantillons revêtues sont isolées les unes des autres. Cette observation permet de proposer l'hypothèse suivante : les bactéries adhèrent à la surface mais elles ne se multiplient pas. La présence du dépôt antibactérien empêche la division des bactéries et leur développement en microcolonie.

Sur l'échantillon témoin, les bactéries sont très nombreuses et semblent regroupées par endroit comme si elles s'étaient développées en microcolonies. Ce qui renforce l'hypothèse précédente. Par contre, il n'est pas possible de dire si le même nombre de bactéries a adhéré sur la surface traitée et non traitée ou, en d'autres termes, si la différence du nombre de bactéries est uniquement due à la différence de développement en microcolonie ou si la nature de la surface (verre ou $\text{TiO}_2\text{-Cu}$) a eu une influence sur l'adhésion des bactéries. La réalité est probablement entre les deux. En effet, sur une lame de verre non revêtue l'angle de contact est

d'environ 30° alors qu'il est de 90-100° pour nos revêtements qui sont donc légèrement hydrophobes.

Nous n'avons pas observé de différences entre les échantillons des deux catégories A et B correspondant à deux fractions molaires de Cu(TMHD)_2 différentes. Nous pouvons émettre l'hypothèse que lorsque les bactéries adhèrent à la surface, la teneur en Cu dans l'échantillon A suffissait pour tuer la bactérie avant qu'elle ne se multiplie. L'augmentation de la teneur en Cu ne semblait pas affecter le taux d'adhésion des bactéries sur la surface de nos dépôts $\text{TiO}_2\text{-Cu}$.

5.4. Test de vieillissement

Une question essentielle pour l'application de ces dépôts est d'étudier leur durabilité. Pour tenter de répondre, des lames de verre (7,5*2,5 cm) revêtues d'un dépôt de 60 nm sur une seule face ont été vieilles dans 2 conditions différentes. Au temps 0, l'activité antibactérienne a été évaluée sur 3 échantillons.

Condition 1 : 6 échantillons ont été disposés dans une boîte non transparente percée de quelques trous puis placée en salle blanche où la température et l'humidité relative (HR) étaient assez constantes (environ 20 °C et 40 % HR). Cette condition peu sévère servait de référence.

Condition 2 : Le fond d'un dessiccateur a été rempli d'eau distillée, 6 échantillons ont ensuite été placés sur une plaque au dessus de l'eau garantissant ainsi avec le couvercle étanche une forte humidité supposée proche de 100 % pendant la durée de l'essai. Le dessiccateur a été ensuite placé dans une étuve à 60 °C.

Le test a été réalisé en absence de lumière. Les paramètres de dépôts de la série B ont été choisis car ces dépôts présentaient une forte activité d'après les tests de cinétique et WHK. Après 2 mois et 5 mois, 3 échantillons ont été prélevés pour chaque condition afin d'évaluer l'activité antibactérienne avec le test JIS et réaliser quelques caractérisations.

Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne a été déterminée à partir du test japonais JIS Z 2801 avec *S. aureus* et les résultats sont présentés ci-après (Figure IV-32).

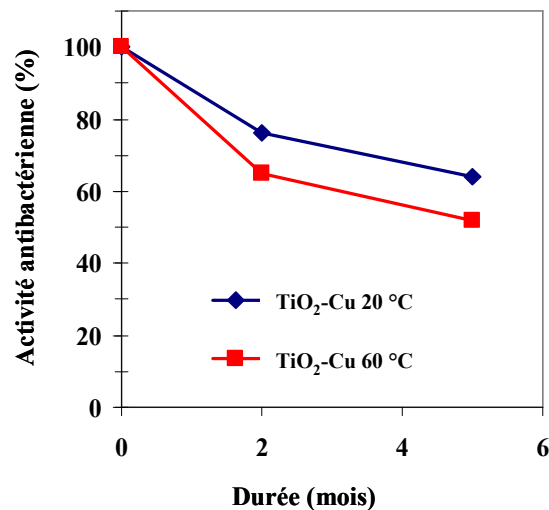


Figure IV- 32. Evaluation de l'activité antibactérienne en fonction du temps (t = 0, 2 et 5 mois) pour deux conditions de vieillissement : 20 °C, 40 % HR et 60 °C, ~100 % HR (Souche bactérienne : *S. aureus*).

L'activité diminuait au cours du temps pour les deux conditions. A 20 °C l'activité chutait plus lentement pour atteindre environ 70 % après 5 mois alors qu'elle était de 60 % pour les échantillons vieillis à 60 °C dans une atmosphère saturée en humidité. Il faut noter que pour quelques points l'écart du nombre d'UFC entre les trois échantillons est supérieur à 1 log, ce qui signifie une certaine hétérogénéité dans les résultats. Néanmoins la moyenne a été reportée sur la figure IV-32. Ce résultat indiquait un vieillissement de nos dépôts.

Analyse des résultats :

Pour comprendre ce vieillissement, les diagrammes de DRX en incidence rasante ont été réalisés sur nos échantillons vieillis à 5 mois et comparés au spectre initial (t=0). Pour la condition 1, le spectre était très similaire. Nous retrouvons les pics de diffraction du TiO₂ anatase et surtout celui du cuivre métallique CFC (Figure IV-33). De même l'aspect bleuté

translucide de la surface a été conservé pour la condition 1 (20 °C, 40 % HR). Au MEB après 2 mois de vieillissement, la morphologie de surface n'était pas altérée (Figure IV-35).

Par contre à 60 °C sous une humidité proche de 100 %, un vieillissement des échantillons a été observé aussi bien du point de vue de leur structure (DRX), de leur aspect que de leur morphologie de surface. Par DRX, les pics de diffractions du cuivre métallique n'étaient plus présents (Figure IV-33) et les échantillons sont presque transparents (Figure IV-34). Après 2 mois, la morphologie de surface révélée par MEB s'est modifiée. Ces observations peuvent refléter une oxydation du cuivre en surface (Figure IV-35).

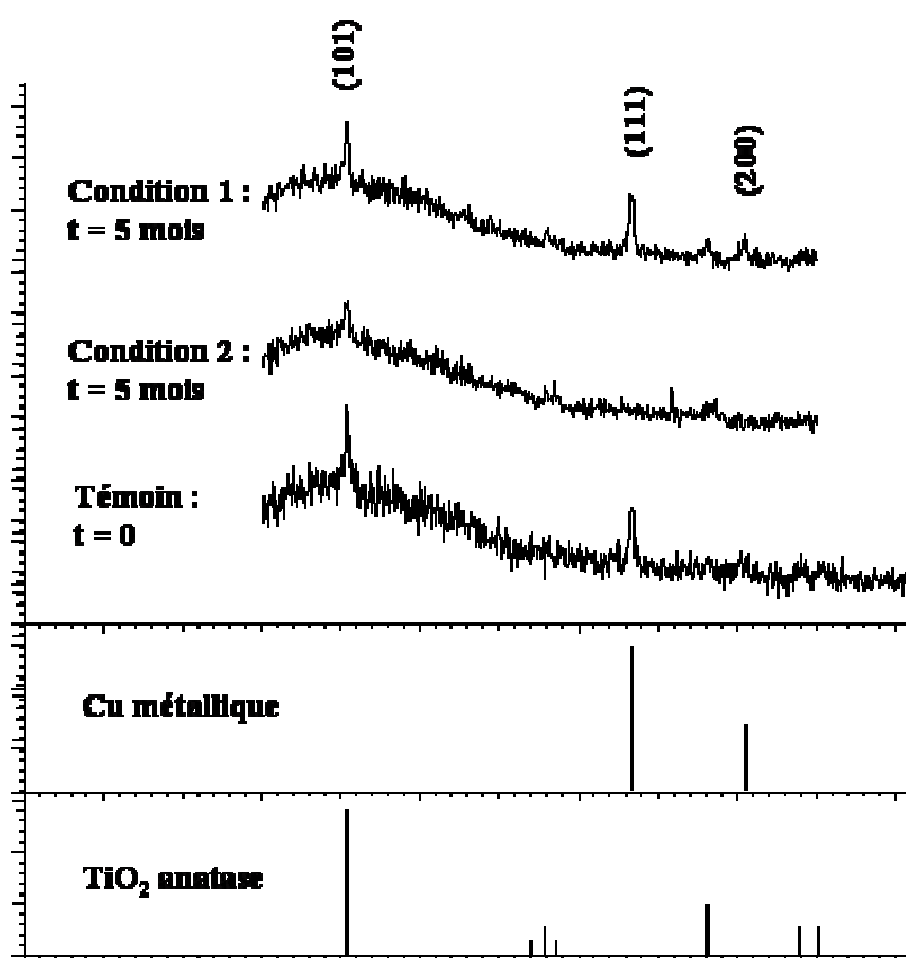


Figure IV-33. Diffraction des rayons X en incidence rasante d'un dépôt $\text{TiO}_2\text{-Cu}$. Conditions de dépôt : $\text{Cu(TMHD)}_2 = 0,15 \%$; 400 °C ; 60 nm d'épaisseur (substrat = verre).



Figure IV-34. Photographie des dépôts $\text{TiO}_2\text{-Cu}$ sur verre après 5 mois de vieillissement (échantillons posés sur un papier blanc).

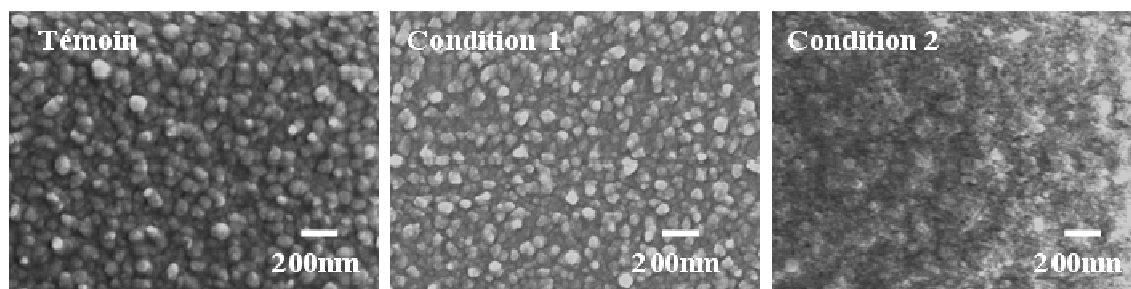


Figure IV- 35. Morphologie de dépôts $\text{TiO}_2\text{-Cu}$ après 2 mois de vieillissement dans des conditions différentes (60 nm d'épaisseur) : condition 1 (20 °C, 40 % HR) ; condition 2 (60 °C, ~100 % HR).

Ces différents résultats et analyses montrent que nos surfaces $\text{TiO}_2\text{-Cu}$ vieillissaient au cours du temps avec probablement une oxydation du cuivre en surface. La formation d'une couche oxydée pourrait expliquer la baisse d'activité antibactérienne au cours du temps. Cette couche d'oxyde aurait un effet barrière et entraînerait une baisse d'activité antibactérienne. La caractérisation complète de ces essais de vieillissement n'a pas pu être réalisée intégralement dans le cadre de cette thèse compte tenu de la durée longue des expériences. Cependant, des analyses par XPS en surface constituent la priorité à venir car elles pourraient confirmer cette hypothèse.

6. Conclusion sur les dépôts $\text{TiO}_2\text{-Cu}$

Pour élaborer les dépôts $\text{TiO}_2\text{-Cu}$, la fraction molaire de TTIP et le débit total des gaz sont restés constants. Seule la fraction molaire de Cu(TMHD)_2 a varié afin de contrôler la teneur en Cu des films, la structure ainsi que l'activité antibactérienne.

L'introduction du précurseur de cuivre a fait chuter la cinétique de croissance de 115 à 70 nm.min⁻¹. Cette baisse peut-être due à une interaction entre les deux précurseurs, à une compétition lors de l'adsorption conduisant à la croissance du film ou à un changement de structure cristalline de TiO₂. La microstructure de TiO₂ a été aussi altérée, passant de granulaire et compact à une tendance colonnaire. Une diminution de la taille moyenne des cristallites de TiO₂ de 40 à 25 nm pour une épaisseur de film constante a été observée lorsque la teneur en Cu augmentait. Cette baisse s'accompagnait de l'apparition de rutil. Le cuivre, lorsqu'il est en quantité suffisante, favoriserait donc la formation de cette phase. Le cuivre est quant à lui sous forme de particules métalliques de structure cubique à faces centrées de 20 à 300 nm qui, pour les plus grosses, émergent de la surface.

L'activité antibactérienne est liée à la teneur en Cu des dépôts. Un film d'une épaisseur supérieure à 100 nm et de 3,5 % at. en Cu était bactéricide selon la norme japonaise. Des tests non normés ont permis d'évaluer l'activité dans des conditions plus représentatives et, dans les différents essais, l'activité antibactérienne de ces films a été confirmée. Un résultat très intéressant est celui du test dit du « brumisateur » car il a montré un effet d'inhibition sur le développement des bactéries sur cette surface.

A 60 °C, dans une atmosphère saturée en eau, un vieillissement apparaissait. De l'oxyde de cuivre s'est probablement formé et a été à l'origine de la baisse d'activité. Le test de vieillissement a montré que ces dépôts vieillissaient au cours du temps mais ils restaient toujours actifs selon la norme JIS Z 2801 au bout de 5 mois.

En conclusion, les dépôts TiO₂-Cu ont montré une bonne activité antibactérienne pour une teneur en Cu relativement faible (3,5 % at.). Pour rappel, ces dépôts étaient antibactériens en l'absence de lumière et ne présentaient aucune activité photocatalytique sous UV.

CONCLUSION GENERALE - PERSPECTIVES

Le secteur des traitements surfaces pour la santé est d'actualité et en fort développement. Les nanotechnologies ou les technologies avancées apporteront des innovations et des solutions contre les modes de contamination des bactéries. Les biofilms constituent une source de contamination par émission de bactéries dans l'environnement. Les bactéries ont besoin d'un support solide pour se développer et se multiplier pour former un biofilm. Du point de vue humain, les infections nosocomiales concernent 5-8 % des patients hospitalisés et du point de vue économique cela coûte environ 40 milliards d'euros en Europe par an.

Des produits antibactériens sont commercialisés mais pour certains d'entre eux il s'agirait plus d'un effet « marketing » que d'un effet réellement bénéfique pour la santé. Des substances chimiques (triclosan, furanone, ammoniums quaternaires, etc.) ont ainsi été étudiées pour résoudre ce problème mais présentant l'inconvénient d'être souvent toxiques (triclosan, furanone), une activité trop sélective et donc insuffisante (sels d'ammonium quaternaire), ou une faible durabilité en raison d'un encrassement des surfaces ou d'une perte de l'agent antibactérien, par exemple par diffusion et relargage.

L'objectif de notre travail a été d'étudier la relation entre la structure des dépôts contenant des agents métalliques sous forme de (nano)-particules et leur activité antibactérienne. Le fait d'introduire une propriété antibactérienne sur un matériau à risque ou inaccessible au nettoyage constitue un enjeu important. Cette fonction est apportée par un film mince afin d'éviter la multiplication des bactéries et de diminuer le risque de contamination. Notre choix de développement s'est axé sur l'optimisation des films minces contenant un minimum d'élément métallique Cu ou Ag dans une matrice de TiO_2 . Ce projet est un sujet transversal, au carrefour entre la science des matériaux et des procédés (élaboration des films minces et caractérisations physico-chimiques et structurales) et la microbiologie. Ce travail s'intégrait dans le cadre du projet ANR COMIPOL.BAC, qui a pour objectif de développer de tels films nanostructurés.

Les dépôts ont été élaborés par le procédé DLI-MOCVD (Direct Liquid Injection Metal Organic Chemical Vapor Deposition). Cette technique permet de maîtriser la quantité de

précurseur injectée dans le réacteur et de contrôler la croissance sur des supports 3D. Le tétra-iso-propoxyde de titane, TTIP, est le précurseur utilisé pour déposer la matrice semiconductrice TiO_2 . Le pivalate d'argent $\text{C}_4\text{H}_9\text{COOAg}$ et le tétraméthyl heptadionate de cuivre $\text{Cu}(\text{TMHD})_2$ étaient les deux précurseurs moléculaires qui ont été utilisés pour introduire les éléments métalliques antibactériens sous forme de particules d'argent et de cuivre. Les caractéristiques physico-chimiques, structurales et antibactériennes ont été étudiées en fonction de la fraction molaire du précurseur contenant l'élément antibactérien, ce paramètre étant avéré comme le facteur dominant pour contrôler la composition des films et donc leurs propriétés.

Le fait d'injecter deux précurseurs simultanément entraîne une modification sur la cinétique des films TiO_2 -métal. Elle chute d'un facteur deux pour les films TiO_2 -métal de 115 nm.min^{-1} à environ 60 nm.min^{-1} . Une interaction entre les deux précurseurs ou une modification des étapes d'adsorption et de croissance en présence de particules métalliques ainsi qu'une transformation allotropique du TiO_2 peut expliquer cette baisse.

Les éléments métalliques (Ag ou Cu) se présentent sous la forme de particules. Pour l'argent elles ont une taille comprise entre 5 et 10 nm alors que pour le cuivre la gamme de taille est très large d'une dizaine de nanomètres à plus de 300 nm. Dans les deux cas les dépôts sont granulaires et l'élément antibactérien est présent sous sa forme métallique cubique à faces centrées pour l'argent et le cuivre.

Dans les gammes de fractions molaires étudiées, la présence des particules d'argent ne modifie pas la taille des cristallites (environ 25 nm) ni la structure anatase du TiO_2 . Dans les films TiO_2 -Cu, le comportement est totalement différent ; la taille des cristallites TiO_2 diminue de 40 à 25 nm pour une épaisseur de film constante avec une augmentation de la fraction molaire du précurseur de cuivre. Cette baisse s'accompagne de l'apparition de la structure cristalline rutile du TiO_2 . Le cuivre est un élément favorisant la cristallisation de cette phase allotropique. L'origine de cette différence de comportement entre les deux types de dépôts peut-être due à la teneur respective en élément antibactérien. En effet la teneur en argent ne dépasse pas 1 % at. alors qu'elle est bien plus importante pour le cuivre (jusqu'à 9 % at. pour les plus fortes teneurs mais 3,5 % at. étant suffisant pour une surface bactéricide). Pour le cuivre, sa répartition dans l'épaisseur des films n'est pas homogène. Un enrichissement près de la surface a été mis en évidence, expliqué par les grosses particules métalliques qui émergent de celle-ci.

L'activité antibactérienne sur *S. aureus* de ces films est liée à la fraction molaire du précurseur contenant l'élément antibactérien, c'est-à-dire la teneur en Ag ou Cu. Dans les deux cas, une fraction molaire minimale correspondant à une teneur seuil est nécessaire pour activer le comportement antibactérien des films. En dessous de cette valeur les dépôts sont inactifs selon la norme JIS Z 2801, au-delà l'activité augmente rapidement pour devenir bactéricide. L'activité antibactérienne est également liée à l'épaisseur du dépôt, l'origine de cela peut-être une augmentation de la surface de contact. Des films d'une épaisseur inférieure ou égale à 100 nm et contenant soit 3,5 % en cuivre soit moins de 1 % atomique d'Ag sont bactéricides selon la norme JIS. Il n'est pas possible de combiner une activité bactéricide (en absence de lumière) et une forte activité photocatalytique (sous UV). En effet l'introduction de particules métalliques dans les films fait chuter l'activité photocatalytique. Pour les dépôts TiO₂-Ag, il existe cependant un domaine dans lequel ces films sont biactifs : un comportement antibactérien sans lumière et une efficacité photocatalytique sous UV-A mais les activités respectives sont modérées. La fonction autonettoyante induite par la photocatalyse hétérogène pourrait cependant accroître l'efficacité dans le temps de l'activité antibactérienne. C'est donc là un atout pour la matrice TiO₂ que ne possède pas d'autres matrices étudiées par d'autres auteurs (SiO_x, *a*-C :H).

Au niveau des tests microbiologiques, la norme JIS Z 2801 a l'intérêt de pouvoir établir un lien entre la structure de nos dépôts et leur activité antibactérienne. Mais ce test n'est pas représentatif de conditions réalistes. Pour cela, des tests spécifiques ont été développés et l'activité de films TiO₂-Cu bactéricides (selon la norme JIS) a été évaluée. Dans le test WHK et du « brumisateurs », l'activité antibactérienne est confirmée avec quelques nuances. Le test WHK est plus sévère avec une compétition entre l'effet antibactérien de la surface et l'apport d'éléments nutritifs. Pour deux films bactéricides selon la norme JIS, le moins riche en cuivre ne présente pas d'activité et le plus riche en cuivre est bactériostatique. Pour le test dit du « brumisateurs », le résultat est très intéressant car il montre une forte baisse du nombre de bactéries sur la surface après 3 jours de test.

Une baisse d'activité au cours du temps (quelques mois) est détectée probablement due à la formation d'oxyde du cuivre. Des analyses plus complètes et des tests supplémentaires seront nécessaires pour identifier les raisons de ce vieillissement pour y remédier.

En conclusion, l'activité antibactérienne des films $\text{TiO}_2\text{-M}$ ($\text{M} = \text{Ag}$ ou Cu) est liée directement à la teneur en élément métallique. Aucune activation lumineuse n'est nécessaire pour avoir une activité bactéricide. Ce travail confirme que l'argent (< 1 at %) est plus efficace en petite quantité que le cuivre (3,5 at %) pour être bactéricide selon la norme JIS Z 2801 envers le *S. aureus*. Le test de diffusion démontre que l'agent antibactérien métallique ne diffuse pas dans l'environnement contrairement à certains agents commerciaux. Cette absence de diffusion est un gage de non toxicité de nos revêtements et laisse supposer une activité plus durable.

Ce travail a permis de progresser sur le thème des surfaces antibactériennes mais il pose aussi beaucoup de questions fondamentales qui demandent encore des études très approfondies.

Le mécanisme d'action des ions cuivre et argent sur les bactéries est proposé dans de nombreux travaux. Mais dans notre cas, l'élément antibactérien initial est sous forme de particules métalliques. Quel en est alors le mécanisme global d'action ? Cela reste à étudier. Quelle est le rôle de la matrice ? Est ce que l'activité serait la même pour une autre matrice, favorise-t-elle le transport des ions métalliques, quelle est l'influence de la porosité du film, quelle est l'influence de la taille des particules de cuivre ? Une autre façon d'aborder la problématique serait de regarder d'une part les effets de couplage ou d'échange de charge entre la matrice et les nanoparticules métalliques (interface métal – semiconducteur) et, d'autre part, entre la surface exposée et les bactéries qui sont souvent chargées négativement.

De plus, il serait très important d'évaluer l'effet de ces surfaces sur la cinétique croissance et le développement de biofilms. De nombreuses questions fondamentales restent en suspend ce qui vise à montrer que cette étude pluridisciplinaire est loin d'être finie.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] James B.Kaper, James P.Nataro, Harry L.T.Mobley. Pathogenic *Escherichia Coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 2004, 2, 123-140.
- [2] Image 8. http://www.Universityofcalifornia.Edu/Everyday/Agriculture/Images/e_Coli.Jpg 2008.
- [3] Rapport de l'Institut de Veille sanitaire. Cas Groupés D'Infections à *E. Coli* O157:H7, Sud-Ouest De La France, Octobre Novembre 2005-2006.
- [4] Whitt DD, Salyers AA. *Bacterial Pathogenesis a Molecular Approach*, 2002.
- [5] Centre canadien d'hygiène et de sécurité au travail.
http://www.Cchst.Ca/Reponsesst/Biol_Hazards/Methicillin.Html.
- [6] Ministère de la Santé et des Solidarités. INFECTIONS NOSOCOMIALES : LE DOSSIER 2007.
- [7] Hygienic Coating and Drug Resistance - Avoiding the VISA Charge HC&S 2005.
- [8] Marion K, Frenay J, James G, Bergeron E, Renaud FNR, Costerton JW. Using an Efficient Biofilm Detaching Agent: an Essential Step for the Improvement of Endoscope Reprocessing Protocols. *Journal of Hospital Infection* 2006; 64(2):136-142.
- [9] Massi L, Guittard F, Geribaldi S, Levy R, Duccini Y. Antimicrobial Properties of Highly Fluorinated Bis-Ammonium Salts. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2003; 21(1):20-26.
- [10] Lu G, Wu D, Fu R. Studies on the Synthesis and Antibacterial Activities of Polymeric Quaternary Ammonium Salts From Dimethylaminoethyl Methacrylate. *Reactive and Functional Polymers* 2007; 67(4):355-366.
- [11] Gao B, Qi C, Liu Q. Immobilization of Quaternary Ammonium Salts on Grafting Particle Polystyrene/SiO₂ and Preliminary Study of Application Performance. *Applied Surface Science* 2008; 254(13):4159-4165.
- [12] American Medical Association. Use of Antimicrobials in Consumer Products. *Report 2 of the Council on Scientific Affairs (A-00)* 2000.
- [13] Environment News Daily. German Appeal to Limit Anti-Bacterial Use. *ENDS Report 957* 2001.
- [14] Environment News Daily. Finnish Warning on Anti-Bacterial Chemicals. *ENDS Report 933* 2001.
- [15] Aviva Glaser. The Ubiquitous Triclosan, A Common Antibacterial Agent Exposed. *Beyond Pesticides/National Coalition Against the Misuse of Pesticides* 2004; 24:12-17.
- [16] Tatarazako N, H.Ishibashi, K.Teshima, K.Kishi, K.Arizona. Effects of Triclosan on Various Aquatic Organisms. *Environmental Sciences* 2004; 11(2):133-140.
- [17] Wilson BA, D.R.Orvos, D.J.Versteeg, J.Inauen. Aquatic Toxicity of Triclosan. *Environmental Toxicology and Chemistry* 2002; 21(7):1338-1349.
- [18] Environment News Daily. Denmark Discourages Household Antibacterials. *ENDS Report 862* 2000.
- [19] microban 1. <Http://www.Ergonomicsnow.Com.Au/Products/Images/MicrobanKBDlg.Jpg>.
- [20] Marini M, Bondi M, Iseppi R, Toselli M, Pilati F. Preparation and Antibacterial Activity of Hybrid Materials Containing Quaternary Ammonium Salts Via Sol-Gel Process. *European Polymer Journal* 2007; 43(8):3621-3628.
- [21] Image 10. Http://www.Alibaba.Com/Catalog/11159963/Antibacterial_Fiber.Html 2008.

- [22] image 11. [Http://www.Alibaba.Com/Product-Gs/52183473/Nano_Silver_Antibacterial_Powder.Html](http://www.Alibaba.Com/Product-Gs/52183473/Nano_Silver_Antibacterial_Powder.Html) 2008.
- [23] image12. [Http://www.Marieclairemaison.Com/WebObjects/Frameworks/Maison_FAImages.Framework/WebServerResources/KG_338280.Jpg](http://www.Marieclairemaison.Com/WebObjects/Frameworks/Maison_FAImages.Framework/WebServerResources/KG_338280.Jpg) 2008.
- [24] image 13. [Http://Ak.Cdiscount.Com/Pdt/J/N/S/1/f/SAMSUNGRS56XDJNS.Jpg](http://Ak.Cdiscount.Com/Pdt/J/N/S/1/f/SAMSUNGRS56XDJNS.Jpg) 2008.
- [25] Lloyd A. Furanone-Based Antibacterial Coatings: Surface Science. *Materials Today* 2004; 7(7-8):23-23.
- [26] Baveja JK, Li G, Nordon RE, Hume EBH, Kumar N, Willcox MDP, Poole-Warren LA. Biological Performance of a Novel Synthetic Furanone-Based Antimicrobial. *Biomaterials* 2004; 25(20):5013-5021.
- [27] Hume EBH, Baveja J, Muir B, Schubert TL, Kumar N, Kjelleberg S, Griesser HJ, Thissen H, Read R, Poole-Warren LA, Schindhelm K, Willcox MDP. The Control of Staphylococcus Epidermidis Biofilm Formation and in Vivo Infection Rates by Covalently Bound Furanones. *Biomaterials* 2004; 25(20):5023-5030.
- [28] Baveja JK, Willcox MDP, Hume EBH, Kumar N, Odell R, Poole-Warren LA. Furanones As Potential Anti-Bacterial Coatings on Biomaterials. *Biomaterials* 2004; 25(20):5003-5012.
- [29] Boyen F, Eeckhaut V, Van Immerseel F, Pasmans F, Ducatelle R, Haesebrouck F. Quorum Sensing in Veterinary Pathogens: Mechanisms, Clinical Importance and Future Perspectives. *Veterinary Microbiology* In Press, Accepted Manuscript.
- [30] Miettinen I, Martikainen P, Vartiainen T, Lötjönen S. Biochemical and Chemical Degradation of 3-Chloro-4-(Dichloromethyl)-5-Hydroxy-2(5H)-Furanone (MX) in Surface and Drinking Water. *Chemosphere* 1993; 27(9):1707-1718.
- [31] Al Bataineh SA, Britcher LG, Griesser HJ. XPS Characterization of the Surface Immobilization of Antibacterial Furanones. *Surface Science* 2006; 600(4):952-962.
- [32] Jacobs W.A., Heidelberger M. The Quaternary Salts of Hexamethylenetetramine I. Substituted Benzyl Halides and the Hexamethylenetetrammoniums Salts Derived Therefrom. *Journal of Biologocal Chemistry* 1915; 20, 659-683.
- [33] Denyer SP, Stewart GSAB. Mechanisms of Action of Disinfectants. *International Biodeterioration & Biodegradation* 1998; 41(3-4):261-268.
- [34] Kopecky F. Micellization and Other Associations of Amphiphilic Antimicrobial Quaternary Ammonium Salts in Aqueous Solutions. *Pharmazie* 1996; 51, 135-144.
- [35] Marini M, Bondi M, Iseppi R, Toselli M, Pilati F. Preparation and Antibacterial Activity of Hybrid Materials Containing Quaternary Ammonium Salts Via Sol-Gel Process. *European Polymer Journal* 2007; 43(8):3621-3628.
- [36] Holah J.T., Higgs C., Penceley S., Worthingto D., Robinson S. A Conductance-Based Surface Disinfection Test for Food Hygiene. *Letters in Applied Microbiology* 1990; 11, 255-259.
- [37] Borella M. Contrôle De La Fonctionlisation De Surface De Revêtement Obtenus Par PECVD à Partir D'Un Composé Organosilicié Cyclique. *Thèse INPG* 2006.
- [38] Liu Y, Zhao Q. Influence of Surface Energy of Modified Surfaces on Bacterial Adhesion. *Biophysical Chemistry* 2005; 117(1):39-45.
- [39] Dexter S.C. Influence of Substratum Critical Surface Tension on Bacteria Adhesion—in Situ Studies. *Colloid Interface Sci.* 1979; 70: 346-354.

- [40] Zhao Q, Liu Y. Modification of Stainless Steel Surfaces by Electroless Ni-P and Small Amount of PTFE to Minimize Bacterial Adhesion. *Journal of Food Engineering* 2006; 72(3):266-272.
- [41] A.Hamza, V.A.Pham, J.R. Santerre, T.Matsuura. Development of Membranes With Low Surface Energy to Reduce the Fouling in Ultrafiltration Applications. *Journal of Membrane Science* 1997; 131: 217-227.
- [42] Bakker P., Huijs F.M., van der Mei H.C., Busscher H.J., Klijnstra J.W., de Vries J. Bacterial Deposition to Fluoridated and Non-Fluoridated Polyurethane Coatings With Different Elastic Modulus and Surface Tension in a Parallel Plate and a Stagnation Point Flow Chamber. *Colloids Surf.* 2003; 32: 179-190.
- [43] Norde W. *Advance in Colloid and Interface Science* 1986; 25: 267.
- [44] Quiquampiox H, Chassin P, Ratcliffe RG. *Progress in Colloid and Polymer Science* 1989; 79: 1.
- [45] Jonsson A.S. and Jonsson B. The Influence of Non-Ionic and Ionic Surfactants on Hydrophobic and Hydrophilic Ultrafiltration Membranes. *J. Membr. Sci.* 1991; 56: 49-76.
- [46] Zhao Q, Liu Y, Wang C, Wang S, Muller-Steinhagen H. Effect of Surface Free Energy on the Adhesion of Biofouling and Crystalline Fouling. *Chemical Engineering Science* 2005; 60(17):4858-4865.
- [47] Coquet L, Cosette P, Junter GA, Beucher E, Saiter JM, Jouenne T. Adhesion of *Yersinia Ruckeri* to Fish Farm Materials: Influence of Cell and Material Surface Properties. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2002; 26(4):373-378.
- [48] Wang J, Huang N, Yang P, Leng YX, Sun H, Liu ZY, Chu PK. The Effects of Amorphous Carbon Films Deposited on Polyethylene Terephthalate on Bacterial Adhesion. *Biomaterials* 2004; 25(16):3163-3170.
- [49] Vanhaecke E., Remon J.P., Van Peteghem A., De Rudder D., Raes F., Moors M. Kinetics of *Pseudomonas Aeruginosa* Adhesion to 304 and 316-L Stainless Steel: Role of Cell Surface Hydrophobicity. *Applied And Environmental Microbiology* 1990; 56(3):788-795
- [50] <http://ruby.colorado.edu/~smyth/min/tio2.html> 2008.
- [51] Rincon AG, Pulgarin C. Photocatalytical Inactivation of *E. Coli*: Effect of (Continuous-Intermittent) Light Intensity and of (Suspended-Fixed) TiO_2 Concentration. *Applied Catalysis B: Environmental* 2003; 44(3):263-284.
- [52] Coleman HM, Marquis CP, Scott JA, Chin SS, Amal R. Bactericidal Effects of Titanium Dioxide-Based Photocatalysts. *Chemical Engineering Journal* 2005; 113(1):55-63.
- [53] Daniel M.Blake, Pin-Ching Maness , Zheng Huang , Edward J.Wolfrum , Jie Huang , William A.Jacoby. Application of the Photocatalytic Chemistry of Titanium Dioxide to Disinfection and the Killing of Cancer Cells 1999; 28:1-50.
- [54] Keller V., Keller N., Lett M.C., J.Ledoux M. Biological Agent Inactivation in a Flowing Air Stream by Photocatalysis. *Chem Commun (Camb)*. 2005; 23:2918-2920.
- [55] Rincon AG, Pulgarin C. Bactericidal Action of Illuminated TiO_2 on Pure *Escherichia Coli* and Natural Bacterial Consortia: Post-Irradiation Events in the Dark and Assessment of the Effective Disinfection Time. *Applied Catalysis B: Environmental* 2004; 49(2):99-112.
- [56] Amezcaga-Madrid P, Silveyra-Morales R, Cordoba-Fierro L, Nevarez-Moorillon GV, Miki-Yoshida M, Orrantia-Borunda E, Solis FJ. TEM Evidence of Ultrastructural Alteration on *Pseudomonas Aeruginosa* by Photocatalytic TiO_2 Thin Films. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 2003; 70(1):45-50.
- [57] Sarantopoulos C, Gleizes AN, Maury F. Chemical Vapor Infiltration of Photocatalytically Active TiO_2 Thin Films on Glass Microfibers. *Surface and Coatings Technology* 2007; 201(22-23):9354-9358.

- [58] Robertson JMC, Robertson J, Lawton LA. A Comparison of the Effectiveness of TiO₂ Photocatalysis and UVA Photolysis for the Destruction of Three Pathogenic Micro-Organisms. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 2005; 175(1):51-56.
- [59] Yamashita H, Nakao H, Takeuchi M, Nakatani Y, Anpo M. Coating of TiO₂ Photocatalysts on Super-Hydrophobic Porous Teflon Membrane by an Ion Assisted Deposition Method and Their Self-Cleaning Performance. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions With Materials and Atoms* 2003; 206:898-901.
- [60] Huang Z, Maness PC, Blake DM, Wolfrum EJ, Smolinski SL, Jacoby WA. Bactericidal Mode of Titanium Dioxide Photocatalysis. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 2000; 130(2-3):163-170.
- [61] Kikuchi Y, Sunada K, Iyoda T, Hashimoto K, Fujishima A. Photocatalytic Bactericidal Effect of TiO₂ Thin Films: Dynamic View of the Active Oxygen Species Responsible for the Effect. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 1997; 106(1-3):51-56.
- [62] Senevirathna MKI, Pitigala PKDD, Tennakone K. High Quantum Efficiency Pt/TiO₂ Catalyst for Sacrificial Water Reduction. *Solar Energy Materials and Solar Cells* 2006; 90(17):2918-2923.
- [63] Betts AJ, Dowling DP, McConnell ML, Pope C. The Influence of Platinum on the Performance of Silver-Platinum Anti-Bacterial Coatings. *Materials & Design* 2005; 26(3):217-222.
- [64] Arabatzis IM, Stergiopoulos T, Bernard MC, Labou D, Neophytides SG, Falaras P. Silver-Modified Titanium Dioxide Thin Films for Efficient Photodegradation of Methyl Orange. *Applied Catalysis B: Environmental* 2003; 42(2):187-201.
- [65] Colon G, Maicu M, Hidalgo MC, Navio JA. Cu-Doped TiO₂ Systems With Improved Photocatalytic Activity. *Applied Catalysis B: Environmental* 2006; 67(1-2):41-51.
- [66] Sung-Suh HM, Choi JR, Hah HJ, Koo SM, Bae YC. Comparison of Ag Deposition Effects on the Photocatalytic Activity of Nanoparticulate TiO₂ Under Visible and UV Light Irradiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 2004; 163(1-2):37-44.
- [67] Hippocrates. On Ulcers, 400 B.C.E. *Translated by Francis Adams, (Http://Classics. Mit. Edu/Browse/Browse-Hippocrates. Html).* 2008.
- [68] Vidal L, Chisvert A, Canals A, Psillakis E, Lapkin A, Acosta F, Edler KJ, Holdaway JA, Marken F. Chemically Surface-Modified Carbon Nanoparticle Carrier for Phenolic Pollutants: Extraction and Electrochemical Determination of Benzophenone-3 and Triclosan. *Analytica Chimica Acta* 2008; 616(1):28-35.
- [69] Feng QL, Wu J, Chen GQ, Cui FZ, Kim TN, Kim JO. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Biomed Mater Res.* 2000; 52(4): 662-8.
- [70] Sondi I, Salopek-Sondi B. Silver Nanoparticles As Antimicrobial Agent: a Case Study on E. Coli As a Model for Gram-Negative Bacteria. *Journal of Colloid and Interface Science* 2004; 275(1):177-182.
- [71] Wataha J.C., Lockwood P.E., Schedle A. Effect of Silver, Copper, Mercury and Nickel Ions on Cellular Proliferation During Extended, Low-Dose Exposures. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 2000; 52(2):360-364.
- [72] Morones J.R., Elechiguerra J.L, Camacho A., Holt K., Kouri J.B., Ramire J.T., Yacaman M.J. The Bactrial Effect of Silver Nanoparticles. *Nanotechnology* 2005; 16:2346-2353.
- [73] Jeon HJ, Yi SC, Oh SG. Preparation and Antibacterial Effects of Ag-SiO₂ Thin Films by Sol-Gel Method. *Biomaterials* 2003; 24(27):4921-4928.
- [74] Wan YZ, Raman S, He F, Huang Y. Surface Modification of Medical Metals by Ion Implantation of Silver and Copper. *Vacuum* 2007; 81(9):1114-1118.

- [75] Yokota T., Tochihara M., Ohta M. Silver Dispersed Stainless Steel With Antibacterial Property. *Kawasaki Steel Technical Report* 2002; 46: 37-41.
- [76] Brook LA, Evans P, Foster HA, Pemble ME, Steele A, Sheel DW, Yates HM. Highly Bioactive Silver and Silver/Titania Composite Films Grown by Chemical Vapour Deposition. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 2007; 187(1):53-63.
- [77] Indekeu JO, Sznajd-Weron K. Hierarchical Population Model With a Carrying Capacity Distribution for Bacterial Biofilms. *Physical Review E* 2003; 68(6):061904.
- [78] Zhao Q, Liu Y. Investigation of Graded Ni-Cu-P-PTFE Composite Coatings With Antiscaling Properties. *Applied Surface Science* 2004; 229(1-4):56-62.
- [79] Airey P, Verran J. Potential Use of Copper As a Hygienic Surface; Problems Associated With Cumulative Soiling and Cleaning. *Journal of Hospital Infection* 2007; 67(3):271-277.
- [80] Noyce JO, Michels H, Keevil CW. Potential Use of Copper Surfaces to Reduce Survival of Epidemic Meticillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* in the Healthcare Environment. *Journal of Hospital Infection* 2006; 63(3):289-297.
- [81] Wan YZ, Xiong GY, Liang H, Raman S, He F, Huang Y. Modification of Medical Metals by Ion Implantation of Copper. *Applied Surface Science* 2007; 253(24):9426-9429.
- [82] Creaven BS, Egan DA, Kavanagh K, McCann M, Mahon M, Noble A, Thati B, Walsh M. Synthesis and Antimicrobial Activity of Copper(II) and Silver(I) Complexes of Hydroxynitrocoumarins: X-Ray Crystal Structures of $[\text{Cu}(\text{Hnc})_2(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ and $[\text{Ag}(\text{Hnc})]$ ($\text{HncH} = 4\text{-Hydroxy-3-Nitro-2H-Chromen-2-One}$). *Polyhedron* 2005; 24(8):949-957.
- [83] Tsuru T, Kan-no T, Yoshioka T, Asaeda M. A Photocatalytic Membrane Reactor for VOC Decomposition Using Pt-Modified Titanium Oxide Porous Membranes. *Journal of Membrane Science* 2006; 280(1-2):156-162.
- [84] Robin M.Slawson, Michele I.Dan Dyke, Hung Lee, Jack T.Trevors. Germanium and Silver Resistance, Accumulation and Toxicity in Microorganisms. *Plasmid* 1992; 27:72-79.
- [85] Bugyi L, Berko A, Ovari L, Kiss AM, Kiss J. Enhanced Dispersion and Stability of Gold Nanoparticles on Stoichiometric and Reduced $\text{TiO}_2(1\ 1\ 0)$ Surface in the Presence of Molybdenum. *Surface Science* 2008; 602(9):1650-1658.
- [86] Su YL, Li C. Stable Multilayer Thin Films Composed of Gold Nanoparticles and Lysozyme. *Applied Surface Science* In Press, Corrected Proof.
- [87] Silver S. Bacterial Resistances to Toxic Metal Ions - a Review. *Gene* 1996; 179(1):9-19.
- [88] Wan YZ, Raman S, He F, Huang Y. Surface Modification of Medical Metals by Ion Implantation of Silver and Copper. *Vacuum* 2007; 81(9):1114-1118.
- [89] Zhang W, Chu PK, Ji J, Zhang Y, Fu RKY, Yan Q. Antibacterial Properties of Plasma-Modified and Triclosan or Bronopol Coated Polyethylene. *Polymer* 2006; 47(3):931-936.
- [90] Di Nunzio S, Vitale Brovarone C, Spriano S, Milanese D, Verne E, Bergo V, Maina G, Spinelli P. Silver Containing Bioactive Glasses Prepared by Molten Salt Ion-Exchange. *Journal of the European Ceramic Society* 2004; 24(10-11):2935-2942.
- [91] Dowling DP, Donnelly K, McConnell ML, Eloy R, Arnaud MN. Deposition of Anti-Bacterial Silver Coatings on Polymeric Substrates. *Thin Solid Films* 2001; 398-399:602-606.
- [92] Zhao J, Feng HJ, Tang HQ, Zheng JH. Bactericidal Properties of Silver Implanted Pyrolytic Carbon. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions With Materials and Atoms* 2006; 243(2):299-303.

- [93] Walsh SE, Maillard J-Y, Russell AD, Catrenich CE, Charbonneau DL, Bartolo RG. Development of Bacterial Resistance to Several Biocides and Effects on Antibiotic Susceptibility. *Journal of Hospital Infection* 2003; 55(2):98-107.
- [94] Thebault P, Taffin de Givenchy E, Guittard F, Guimon C, Geribaldi S. Self-Assembled Monolayers of Semi-Fluorinated Thiols and Disulfides With a Potentially Antibacterial Terminal Fragment on Gold Surfaces. *Thin Solid Films* 2008; 516(8):1765-1772.
- [95] Suzuki S, Ying B, Yamane H, Tachi H, Shimahashi K, Ogawa K, Kitamura S. Surface Structure of Chitosan and Hybrid Chitosan-Amylose Films--Restoration of the Antibacterial Properties of Chitosan in the Amylose Film. *Carbohydrate Research* 2007; 342(16):2490-2493.
- [96] Martin HJ, Schulz KH, Bumgardner JD, Walters KB. An XPS Study on the Attachment of Triethoxysilylbutyraldehyde to Two Titanium Surfaces As a Way to Bond Chitosan. *Applied Surface Science* In Press, Corrected Proof.
- [97] Ma Y, Zhou T, Zhao C. Preparation of Chitosan-Nylon-6 Blended Membranes Containing Silver Ions As Antibacterial Materials. *Carbohydrate Research* 2008; 343(2):230-237.
- [98] Laporta O, Funes L, Garzon MT, Villalain J, Micol V. Role of Membranes on the Antibacterial and Anti-Inflammatory Activities of the Bioactive Compounds From Hypoxis Rooperi Corm Extract. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2007; 467(1):119-131.
- [99] Kim J, Cho M, Oh B, Choi S, Yoon J. Control of Bacterial Growth in Water Using Synthesized Inorganic Disinfectant. *Chemosphere* 2004; 55(5):775-780.
- [100] Joseph M, Kuriakose M, Kurup MRP, Suresh E, Kishore A, Bhat SG. Structural, Antimicrobial and Spectral Studies of Copper(II) Complexes of 2-Benzoylpyridine N(4)-Phenyl Thiosemicarbazone. *Polyhedron* 2006; 25(1):61-70.
- [101] Morones J.R., Elechiguerra J.L., Camacho A., Kouri J.B., Holt K., Yacaman M.J., Ramirez J.T. The Bactericidal Effect of Silver Nanoparticles. *Nanotechnology* 2005; 16(10):2346-2353.
- [102] Elsabee MZ, Abdou ES, Nagy KSA, Eweis M. Surface Modification of Polypropylene Films by Chitosan and Chitosan/Pectin Multilayer. *Carbohydrate Polymers* 2008; 71(2):187-195.
- [103] Creaven BS, Egan DA, Kavanagh K, McCann M, Noble A, Thati B, Walsh M. Synthesis, Characterization and Antimicrobial Activity of a Series of Substituted Coumarin-3-Carboxylatosilver(I) Complexes. *Inorganica Chimica Acta* 2006; 359(12):3976-3984.
- [104] Chua PH, Neoh KG, Kang ET, Wang W. Surface Functionalization of Titanium With Hyaluronic Acid/Chitosan Polyelectrolyte Multilayers and RGD for Promoting Osteoblast Functions and Inhibiting Bacterial Adhesion. *Biomaterials* 2008; 29(10):1412-1421.
- [105] Fernandez R.O., Pizarro R.A. *Photochem. Photobiol.* 1996; 64:334.
- [106] Liao S., Read D., Pugh W., Furr J., Russell A.. *Lett. Appl. Microbiol* 1997; 25:279.
- [107] Clement J.L., Jarrett P.S. *Metal-Based Drugs* 1994; 1:467.
- [108] Jensen R.H., Davidson N. *Biopolymers* 1966; 4:17.
- [109] Bragg P.D., Rainnie D.J. *Can. J. Microbiol* 1973; 20:883.
- [110] Silver S. Bacterial Silver Resistance: Molecular Biology and Uses and Misuses of Silver Compounds. *FEMS Microbiology Reviews* 2003; 27(2-3):341-353.
- [111] Gradel T.E, Franey J.P, Gualtieri G.J, Kammlott G.W., Malm D.L. On the Mechanism of Silver and Copper Sulfidation by Atmospheric H₂S and OCS = Mécanisme De Sulfuration De L'Argent Et Du Cuivre Par H₂S Et Le Sulfure Carbonyle Atmosphériques. *Corrosion Science* ; 25(12):1163-1180.

- [112] Volpe L., Peterson P.J. The Atmospheric Sulfidation of Silver in a Tubular Corrosion Reactor = La Corrosion Atmosphérique De L'Argent Dans Un Réacteur De Corrosion Tubulaire. *Corrosion Science* 1989; 29(10):1179-1196.
- [113] Jeon HJ, Yi SC, Oh SG. Preparation and Antibacterial Effects of Ag-SiO₂ Thin Films by Sol-Gel Method. *Biomaterials* 2003; 24(27):4921-4928.
- [114] Tang HQ, Feng J, Zheng JH, Zhao J. A Study on Antibacterial Properties of Ag⁺-Implanted Pyrolytic Carbon. *Surface and Coatings Technology* 2007; 201(9-11):5633-5636.
- [115] Zhao Q, Liu Y, Wang C, Wang S, Peng N, Jeynes C. Reduction of Bacterial Adhesion on Ion-Implanted Stainless Steel Surfaces. *Medical Engineering & Physics* In Press, Corrected Proof.
- [116] Cheng Q, Li C, Pavlinek V, Saha P, Wang H. Surface-Modified Antibacterial TiO₂/Ag⁺ Nanoparticles: Preparation and Properties. *Applied Surface Science* 2006; 252(12):4154-4160.
- [117] BS EN 13697. Chemical Disinfectants and Antiseptics. Quantitative Non-Porou 2001.
- [118] Zhang X, Zhou M, Lei L. Preparation of an Ag-TiO₂ Photocatalyst Coated on Activated Carbon by MOCVD. *Materials Chemistry and Physics* 2005; 91(1):73-79.
- [119] Fox M.A., Dulay M.T. *Chem. Rev.* 1993; 93:341-357.
- [120] Zhao Q, Liu Y, Abel EW. Effect of Cu Content in Electroless Ni-Cu-P-PTFE Composite Coatings on Their Anti-Corrosion Properties. *Materials Chemistry and Physics* 2004; 87(2-3):332-335.
- [121] Mulligan AM, Wilson M, Knowles JC. The Effect of Increasing Copper Content in Phosphate-Based Glasses on Biofilms of Streptococcus Sanguis. *Biomaterials* 2003; 24(10):1797-1807.
- [122] Zhang W, Zhang YH, Ji JH, Zhao J, Yan Q, Chu PK. Antimicrobial Properties of Copper Plasma-Modified Polyethylene. *Polymer* 2006; 47(21):7441-7445.
- [123] Lu FH, Fang FX, Chen YS. Eutectic Reaction Between Copper Oxide and Titanium Dioxide. *Journal of the European Ceramic Society* 2001; 21(8):1093-1099.
- [124] Kuo YC, Lee JW, Wang CJ, Chang YJ. The Effect of Cu Content on the Microstructures, Mechanical and Antibacterial Properties of Cr-Cu-N Nanocomposite Coatings Deposited by Pulsed DC Reactive Magnetron Sputtering. *Surface and Coatings Technology* 2007; 202(4-7):854-860.
- [125] Borkow G., Gabbay J. *Curr. Med. Chem.* 2005; 12: 2163-2175.
- [126] Cooney T.E., Tang R.J. *Methods Enzymol.* 1999; 310: 637-644.
- [127] Stout J.E., Lin Y.S., Goetz A.M., Muder R.R. *Infect. Cont. Hosp. Epidemiol* 1998; 19: 911-914.
- [128] Nies DH. Efflux-Mediated Heavy Metal Resistance in Prokaryotes. *FEMS Microbiology Reviews* 2003; 27(2-3):313-339.
- [129] Donald A Cooksey. Molecular Mechanisms of Copper Resistance and Accumulation in Bacteria. *FEMS Microbiology Reviews* 1994; 14:381-386.
- [130] Brown NLLBTOaSS. Bacterial Transport of and Resistance to Copper. *Metal Ions in Biological Systems* 1994; 30:405-434.
- [131] Gail M.Teitzel and Matthew R.Parsek. Heavy Metal Resistance of Biofilm and Planktonic. *Applied And Environmental Microbiology* 2003; 69:2313-2320.
- [132] Sunada K., Watanabe T., Hashimoto K. Bactericidal Activity of Copper-Deposited TiO₂ Thin Film Under Weak UV Light Illumination. *Environ. Sci. Technol* 2003; 37:20.

- [133] Luo MF, Hu GR, Lee MH. Surface Structures of Atomic Hydrogen Adsorbed on Cu(1 1 1) Surface Studied by Density-Functional-Theory Calculations. *Surface Science* 2007; 601(6):1461-1466.
- [134] Zhao H, Huang Z, Cui J. Electroless Plating of Copper on AZ31 Magnesium Alloy Substrates. *Microelectronic Engineering* 2008; 85(2):253-258.
- [135] Tian XB, Wang ZM, Yang SQ, Luo ZJ, Fu RKY, Chu PK. Antibacterial Copper-Containing Titanium Nitride Films Produced by Dual Magnetron Sputtering. *Surface and Coatings Technology* 2007; 201(19-20):8606-8609.
- [136] Yates HM, Brook LA, Ditta IB, Evans P, Foster HA, Sheel DW, Steele A. Photo-Induced Self-Cleaning and Biocidal Behaviour of Titania and Copper Oxide Multilayers. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 2008; 197(2-3):197-205.
- [137] Brook LA, Evans P, Foster HA, Pemble ME, Sheel DW, Steele A, Yates HM. Novel Multifunctional Films. *Surface and Coatings Technology* 2007; 201(22-23):9373-9377.
- [138] Science Canada. [Http://www.Science.Ca/Scientists/Scientistprofile.Php?PID=143&Pg=0](http://www.Science.Ca/Scientists/Scientistprofile.Php?PID=143&Pg=0) 2008.
- [139] Auvergnat JC, Diop Mar I. Qu'Est-Ce Qu'Un Traitement Antibacterien De Premiere Intention ? Sa Place, Ses Limites. *Medecine Et Maladies Infectieuses* 1986; 16(2, Part 2):109-111.
- [140] Costerton JW. Introduction to Biofilm. *International Journal of Antimicrobial Agents* 1999; 11(3-4):217-221.
- [141] Fux CA, Costerton JW, Stewart PS, Stoodley P. Survival Strategies of Infectious Biofilms. *Trends in Microbiology* 2005; 13(1):34-40.
- [142] Hope CK, Wilson M. Biofilm Structure and Cell Vitality in a Laboratory Model of Subgingival Plaque. *Journal of Microbiological Methods* 2006; 66(3):390-398.
- [143] Johnson LR. Microcolony and Biofilm Formation As a Survival Strategy for Bacteria. *Journal of Theoretical Biology* 2008; 251(1):24-34.
- [144] image 9. [Http://Commons.Wikimedia.Org/Wiki/Image:Staphylococcus_Aureus_Biofilm_01.Jpg](http://Commons.Wikimedia.Org/Wiki/Image:Staphylococcus_Aureus_Biofilm_01.Jpg) 2008.
- [145] Costerton J.W., Stewart Philip S., Greenberg E.P. Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections. *Microbes, Immunity and Disease* 1999; 284:1318-1322.
- [146] Fux CA, Costerton JW, Stewart PS, Stoodley P. Survival Strategies of Infectious Biofilms. *Trends in Microbiology* 2005; 13(1):34-40.
- [147] Fux CA, Costerton JW, Stewart PS, Stoodley P. Survival Strategies of Infectious Biofilms. *Trends in Microbiology* 2005; 13(1):34-40.
- [148] Center for biofilm engineering at MSU-Bozeman 2003.
- [149] Fucio SBP, Carvalho FG, Sobrinho LC, Sinhoreti MAC, Puppim-Rontani RM. The Influence of 30-Day-Old Streptococcus Mutans Biofilm on the Surface of Esthetic Restorative Materials--An in Vitro Study. *Journal of Dentistry* 2008; In Press, Corrected Proof.
- [150] Cresson R, Escudi R, Steyer JP, Delgen JP, Bernet N. Competition Between Planktonic and Fixed Microorganisms During the Start-Up of Methanogenic Biofilm Reactors. *Water Research* 2008; 42(3):792-800.
- [151] Dimitrov D, Hadjiev D, Nikov I. Optimisation of Support Medium for Particle-Based Biofilm Reactors. *Biochemical Engineering Journal* 2007; 37(3):238-245.
- [152] Hadjiev D, Dimitrov D, Martinov M, Sire O. Enhancement of the Biofilm Formation on Polymeric Supports by Surface Conditioning. *Enzyme and Microbial Technology* 2007; 40(4):840-848.

- [153] Song B, Leff LG. Influence of Magnesium Ions on Biofilm Formation by *Pseudomonas Fluorescens*. *Microbiological Research* 2006; 161(4):355-361.
- [154] Konishi T, Yamashiro T, Koide M, Nishizono A. Influence of Temperature on Growth of *Legionella Pneumophila* Biofilm Determined by Precise Temperature Gradient Incubator. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 2006; 101(6):478-484.
- [155] Lopes FA, Morin P, Oliveira R, Melo LF. The Influence of Nickel on the Adhesion Ability of *Desulfovibrio Desulfuricans*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2005; 46(2):127-133.
- [156] Telgmann U, Horn H, Morgenroth E. Influence of Growth History on Sloughing and Erosion From Biofilms. *Water Research* 2004; 38(17):3671-3684.
- [157] Mayette DC. The Existence And Significance Of Biofilms In Water. *Water Review* 1992; 10(3):1-3.
- [158] Apilanez I, Gutiérrez A, Diaz M. Effect of Surface Materials on Initial Biofilm Development. *Bioresource Technology* 1998; 66(3):225-230.
- [159] Meltzer TH. High-Purity Water Preparation for the Semiconductor, Pharmaceutical, and Power Industries. *Tall Oaks Publishing, Inc. , Littleton CO* 1993.
- [160] Bruinsma GM, van der Mei HC, Busscher HJ. Bacterial Adhesion to Surface Hydrophilic and Hydrophobic Contact Lenses. *Biomaterials* 2001; 22(24):3217-3224.
- [161] Hengtrakool C, Pearson GJ, Wilson M. Interaction Between GIC and *S. Sanguis* Biofilms: Antibacterial Properties and Changes of Surface Hardness. *Journal of Dentistry* 2006; 34(8):588-597.
- [162] Melo L.F. MJV. Physical Stability and Biological Activity of Biofilms Under Turbulent Flow and Low Substrate Concentration. *Bioprocess and Biosystems Engineering* 2008; 20:363-368.
- [163] Husted GR, Rutkowski AA, Couture A. Response of Oligotrophic Biofilm Bacteria in High-Purity Water Systems to Stepwise Nutrient Supplementation. *Ultrapure Water* 1994; 11(6):43-50.
- [164] Flemming HC, Geesey G.G. Biofouling and Biocorrosion in Industrial Water Systems. *Springer-Verlag, New York (1991)*. 1990.
- [165] Mansfeld F. The Interaction of Bacteria and Metal Surfaces. *Electrochimica Acta* 2007; 52(27):7670-7680.
- [166] Teng F, Guan YT, Zhu WP. Effect of Biofilm on Cast Iron Pipe Corrosion in Drinking Water Distribution System: Corrosion Scales Characterization and Microbial Community Structure Investigation. *Corrosion Science* In Press, Accepted Manuscript.
- [167] Sheng X, Ting YP, Pehkonen SO. The Influence of Sulphate-Reducing Bacteria Biofilm on the Corrosion of Stainless Steel AISI 316. *Corrosion Science* 2007; 49(5):2159-2176.
- [168] Fang HHP, Xu LC, Chan KY. Effects of Toxic Metals and Chemicals on Biofilm and Biocorrosion. *Water Research* 2002; 36(19):4709-4716.
- [169] Perni S, Jordan SJ, Andrew PW, Shama G. Biofilm Development by *Listeria Innocua* in Turbulent Flow Regimes. *Food Control* 2006; 17(11):875-883.
- [170] Mittelman MW. Biological Fouling of Purified-Water Systems: Part 1, Bacterial Growth and Replication. *Micro Contamination* 1985; 3(10):51-55.
- [171] Patterson MK, Husted GR, Mayette DC, Rutkowski A. *Ultrapure Water* 1991; 8(4):18-24.
- [173] Hicks SJ, Rowbury RJ. Resistance of Attached *Escherichia Coli* to Acrylic Acid and Its Significance for the Survival of Plasmid-Bearing Organisms in Water. *Annales De L'Institut Pasteur. Microbiologie* 1987; 138(3):359-369.

- [174] Lewandowski Z, Stoodley P. Flow Induced Vibrations, Drag Force, and Pressure Drop in Conduits Covered With Biofilm. *Water Science and Technology* 1995; 32(8):19-26.
- [175] Oliveira R. Understanding Adhesion: A Means for Preventing Fouling. *Experimental Thermal and Fluid Science* 1997; 14(4):316-322.
- [176] Stewart PS, William Costerton J. Antibiotic Resistance of Bacteria in Biofilms. *The Lancet* 2001; 358(9276):135-138.
- [177] Meyer B. Approaches to Prevention, Removal and Killing of Biofilms. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2003; 51(4):249-253.
- [178] Park K.Y., Ullmann M., Suh Y.J., Friedlander S.K. Nanoparticle Microreactor: Application to Synthesis Of Titania by Thermal Decomposition of Titanium Tetraisopropoxide. *Journal of Nanoparticle Research* 2001; 3:309-319.
- [179] Samoilencov S. Low-Temperature MOCVD of Conducting, Micrometer-Thick, Silver Films. *Chemical Vapor Deposition* 2002; 8 : 74-78.
- [180] Catalogue MSDS Strem. Température De Décomposition De Cu(TMHD)₂. 2008.
- [181] Vidal S, Maury F, Gleizes A, Mijoule C. Photo-Assisted MOCVD of Copper Using Cu(Hfa)(COD) As Precursor. *Applied Surface Science* 2000; 168(1-4):57-60.
- [182] Taylor C.J., Gilmer D.C., Colombo D.G., Wilk G.D., Campbell S.A., Roberts J., Gladfelter W.L. *J. Am. Chem. Soc.* 1999; 121:5220.
- [183] Xylene. [Http://En.Wikipedia.Org/Wiki/Xylene](http://En.Wikipedia.Org/Wiki/Xylene) 2008.
- [184] Douard A. Dépôt De Carbures, Nitrures Et Multicouches Nanostructurées à Base De Chrome Sous Pression Atmosphérique Par DLI-MOCVD. Nouveaux Procédés Et Potentialités De Ces Revêtements Métallurgiques. *Thèse INPT* 2006.
- [185] Mésitylène. [Http://Fr.Wikipedia.Org/Wiki/M%C3%A9sityl%C3%A8ne](http://Fr.Wikipedia.Org/Wiki/M%C3%A9sityl%C3%A8ne) 2008.
- [186] Dipropylamine.
[Http://www.Ilo.Org/Public/English/Protection/Safework/Cis/Products/Icsc/Dtasht/_Icsc04/Icsc0449.Htm](http://www.Ilo.Org/Public/English/Protection/Safework/Cis/Products/Icsc/Dtasht/_Icsc04/Icsc0449.Htm) 2008.
- [187] Manin M. Croissance De Films Minces De MgO Par CVD Et Injection Liquide : Elaboration Et Modelisation. *Thèse* 2005.
- [188] Sarantopoulos C. Photocatalyseurs à Base De TiO₂ Préparées Par Infiltration Chimique En Phase Vapeur (CVI) Sur Support Microfibreux. *Thèse INPT* 2007.
- [189] JIS Z 2801 (2000) : Antimicrobial Products -Test for Antimicrobial Activity and Efficacy 2000.
- [190] Haldar J., Weight A.K., Klivanov AM. Préparation, Application and Testing of Permanent Antibacterial and Antiviral Coatings. *Nature Protocols* 2007; 2(10):2412-7.
- [191] NF EN ISO 20645. Contrôle De L'Activité Antibactérienne; Essai De Diffusion Sur Plaques De Gélose 2005.
- [192] He C, Yu Y, Hu X, Larbot A. Influence of Silver Doping on the Photocatalytic Activity of Titania Films. *Applied Surface Science* 2002; 200(1-4):239-247.
- [193] De Vries R.C., Roy R. *Am. Ceram. Soc. Bull* 1954; 33(12):370.
- [194] Post J.E., Burnham C.W. *American Mineralogist* 1986; 71:142.

- [195] Carp O., Huisman C.L., Reller A. *Progress in Solid State Chemistry* 2004; 32:33.
- [196] Iida Y., Ozaki S. *J. Am. Ceram. Soc.* 1961; 44:120.
- [197] Debeila M.A., Raphulu M.C., Mokoena E., Avalos M., Petranovskii V., Coville N.J., Scurrrell M.S. *Mater. Sci. Eng. A* 2005; 396(1-2):61.
- [198] Kim Y.-J., Francis L.F. *J. Mater. Sci.* 1998; 33:4423.
- [199] Zhao J., Wang Z., Wang L., Yang H., Zhao M. *J. Mater. Sci. Lett.* 1998; 17 :1867.

ANNEXE

Les bactéries

Ce sont des micro-organismes, utiles pour la vie sur terre, inoffensifs dans leur grande majorité bien que certains soient pathogènes et dangereux pour la santé. Les bactéries pathogènes sont responsables des infections. Elles ne sont pas les seuls agents infectieux : les virus, parasites, champignons, moisissures, levures, etc., présentent aussi un danger. La figure A-1 rapporte la taille des bactéries et autres micro-organismes comparés à quelques références: celles-ci varient de 0,1 à une dizaine de micromètres.

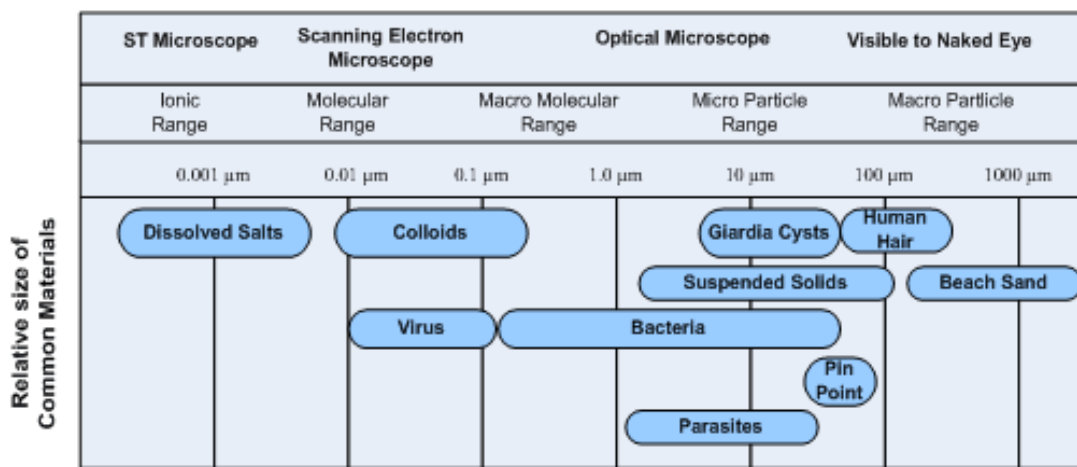


Figure A-1. Ordre de grandeur de quelques bactéries et micro-organismes [200].

La forme des bactéries est variée. Il existe des formes rondes ou coques (*coccus* en latin, au pluriel *cocci*), des formes allongées en bâtonnet ou bacilles et des formes spiralées. La figure A-2 présente ces formes.

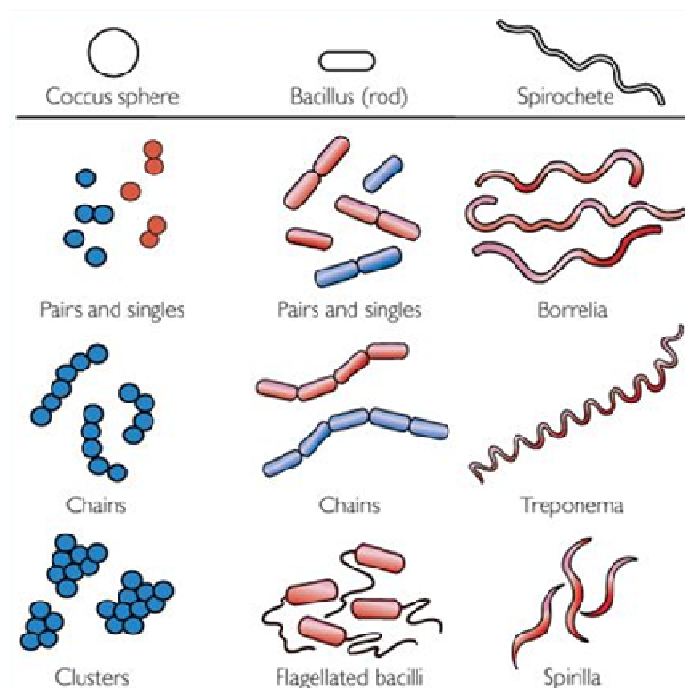


Figure A-2. Différentes formes des bactéries [201].

L'étude au microscope de la forme des bactéries ne fournit pas de renseignements très détaillés mais présente cependant un intérêt considérable car elle constitue la première étape de toute identification bactérienne. Des exemples de bactéries et leurs pouvoirs pathogènes sont donnés dans le tableau A-I.

Morphologie	Genre	Espèce	Lieu	Pouvoir pathogène
Coques à Gram positif	<i>Staphylococcus</i>	<i>Aureus epidermidis</i>	Peau Muqueuses	Suppuration
Coques à Gram négatif	<i>Neisseria</i>	<i>gonorrhoeae</i> <i>meningitidis</i>	Voies génitales Pharynx	Blennorragie, IST Méningites cérébrospinales
Bacilles à Gram positif	<i>Listeria</i>	<i>monocytogenes</i>	Ubiquitaire	Méningites Infections neonatales
	<i>Bacillus</i>	<i>anthracis</i> <i>Autres</i>	Spores dans les sols, dans les végétaux, dans les fourrures	Charbon Non pathogènes
Bactéries de forme spiralée	<i>Treponema</i> <i>Leptospira</i>	<i>pallidum</i> <i>icterohemorrhagiae</i>	Homme Rongeurs et animaux	Syphilis Leptospirose

Tableau A-1. Quelques exemples de bactéries.

La connaissance des différentes structures des bactéries est nécessaire pour comprendre leur métabolisme. Certaines de ces structures sont permanentes, d'autres non.

1. Structure externe

1.1. La capsule

La capsule est une structure extérieure non constante (Figure A-3). Elle entoure la bactérie. Elle est constituée de polysaccharides dans la plupart des cas mais peut être polypeptidique (*B. anthracis*). Elle n'est pas colorable par la méthode de Gram. Ce composant est lié à certains pouvoirs pathogènes, car il empêche la phagocytose. Elle peut se trouver à l'état soluble dans les liquides de l'organisme. Elle intervient dans l'identification infra-spécifique. Ce typage est une des méthodes de reconnaissance des épidémies. Les polymères capsulaires purifiés sont à la base de certains vaccins (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*).

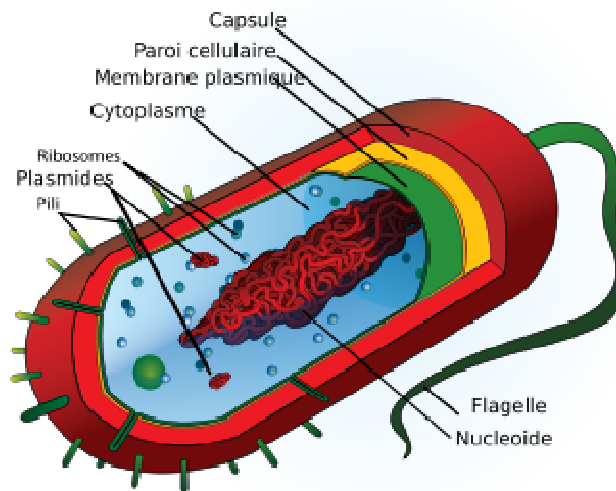


Figure A-3. Structure d'une bactérie [202].

Le glycocalyx est un matériau constitué de fibres polysaccharidiques ou polymères extrêmement fréquents entourant la bactérie et difficile à visualiser au microscope électronique. Le feutrage des fibres de glycocalyx est constant dans le cas de bactéries vivant en biofilms. Il est responsable de l'attachement des bactéries aux cellules (cellules buccales, respiratoires) ou à des supports inertes (plaque dentaire, biofilms sur les cathéters ou encore sur les prothèses). Il protège les bactéries du biofilm de la dessiccation, sert à concentrer ou

modifier les éléments nutritifs exogènes et rend les bactéries résistantes aux antiseptiques, aux désinfectants et aux antibiotiques.

1.2. Les pili

Ce sont des formations qu'on ne peut observer qu'au microscope électronique. Certains d'entre eux, dénommés pili communs ou fimbriae sont courts et fragile. Ils sont utiles pour l'adhésion des bactéries aux interfaces et particulièrement aux muqueuses et constituent donc des facteurs de virulence. Ils ont une structure protéique : la piline. Les pili sexuels, plus longs, relient deux bactéries et sont des voies d'échanges de matériel génétique entre les bactéries.

1.3. La paroi

C'est une enveloppe rigide assurant l'intégrité de la bactérie. Elle est responsable de la forme des cellules. Elle protège la bactérie des variations de pression osmotique. En dehors de bactéries halophiles ou thermophiles (Archae), la partie commune à toutes les parois bactériennes est le peptidoglycane, enveloppe la plus interne. Le peptidoglycane est un hétéropolymère composé de chaînes glucidiques reliées aux autres par des chaînons tétrapeptides. La macromolécule réticulée tridimensionnelle est ainsi constituée et sa solidité dépend de l'importance des interconnexions. La paroi de la bactérie est une unique macromolécule.

La composition varie selon l'espèce ou le groupe bactérien. Il est possible de distinguer des affinités tinctoriales différentes par la coloration de Gram. On distingue des bactéries à Gram positif et négatif.

Cette analyse de base est couramment utilisée grâce à sa simplicité et son efficacité, le principe étant de colorer la paroi des bactéries avec un colorant, classiquement le « cristal violet ». Ensuite un agent décolorant est appliqué puis les lames sont recolorées avec de la safranine. Les bactéries à Gram positif apparaissent en violet et les bactéries à Gram négatif en rose. Cette technique permet de les visualiser au microscope optique (Figure A-4).

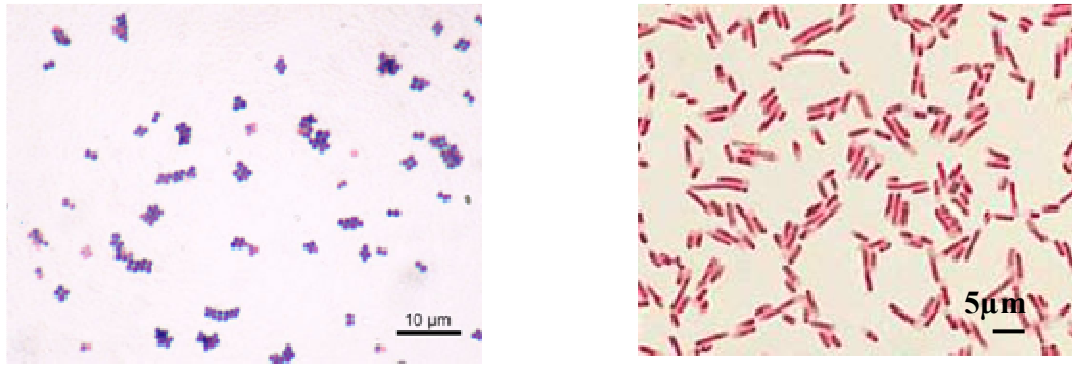


Figure A-4. Exemples de la coloration de Gram positive (gauche) [203] et négative (droite) [204].

Les deux types de paroi ont une structure différente :

- les parois épaisses et denses (Gram positif) ; elles sont presque uniquement constituées de peptidoglycane (Figure A-5).

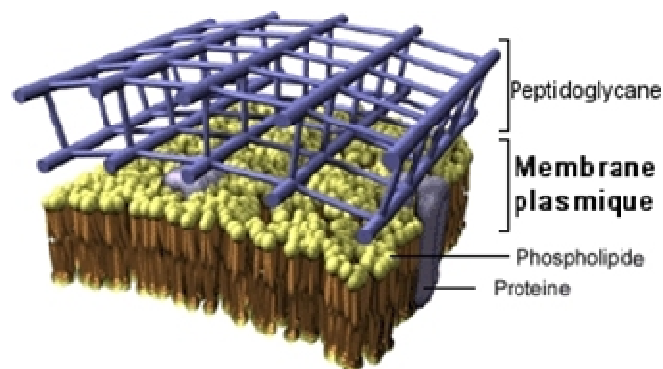


Figure A-5. Paroi de bactérie à Gram positif [205].

- les parois fines et lâches (Gram négatif) ; elles ont une structure plus complexe constituée d'une fine couche de peptidoglycane (à structure plus lâche que celui des parois épaisses Gram positif) recouverte à l'extérieur d'une membrane externe dite membrane L. Cette paroi est séparée de la membrane cytoplasmique par un espace appelé espace périplasmique (Figure A-6). La membrane externe constituée de lipides (phospholipides et lipopolysaccharides) est organisée en deux couches hydrophiles séparées par une couche hydrophobe. Des protéines, dont des porines permettant le passage des molécules hydrophiles se trouvent dans l'épaisseur de cette membrane. Les lipopolysaccharides les plus externes portent les antigènes O des bactéries et

contiennent aussi un lipide A qui constitue l'endotoxine des bactéries. La paroi détermine la forme de la bactérie. Elle la protège et est un passage obligé pour les échanges avec le milieu extérieur ; elle est antigénique (antigène O). La paroi est la cible d'antibiotiques tels que les bêta-lactamines qui bloquent la synthèse du peptidoglycane. Une bactérie ne peut pas vivre sans sa paroi.

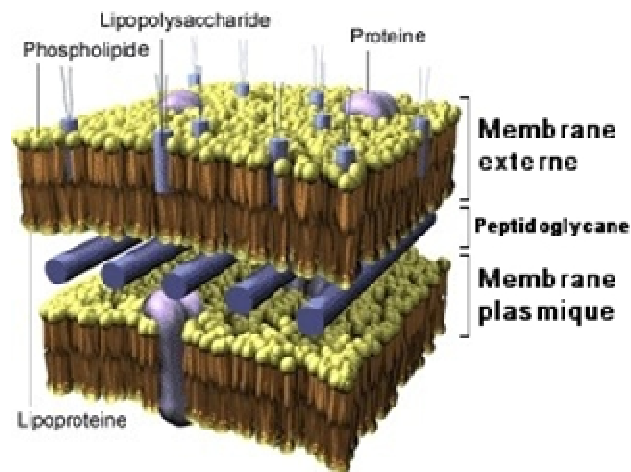


Figure A-6. Paroi de bactérie à Gram négatif [205].

1.4. La membrane cytoplasmique

La membrane cytoplasmique entoure le cytoplasme (Figure A-3). Elle a une structure lipidoprotidique comme toutes les membranes cellulaires. Les molécules qui la constituent sont mobiles dans leur épaisseur lui donnant ainsi une grande plasticité. Parmi les diverses protéines, certaines sont constitutives, d'autres ont un rôle de transport permettant le passage de diverses molécules ou ions (Na, K, Cl, sucres, aminoacides ou oligopeptides). Elle contrôle donc les entrées et les sorties de la cellule. La membrane cytoplasmique des bactéries contient en outre de nombreux enzymes assurant les synthèses et fournissant l'énergie nécessaire au métabolisme des bactéries. Certaines bactéries produisent des bactériocines, substances toxiques pour les bactéries et certaines de ces bactériocines perturbent le fonctionnement de la membrane cytoplasmique. La membrane est la cible, entre autres, des antibiotiques polypeptidiques.

2. Structure interne

2.4. Le cytoplasme

Il contient essentiellement les ribosomes qui assurent les synthèses protéiques en traduisant l'ARN-m. Ils sont en étroit contact avec le matériel nucléaire. Les ribosomes des bactéries sont différents des ribosomes des eucaryotes (70 S au lieu de 80 S). Ils constituent la cible de nombreux antibiotiques (Figure A-3).

2.5. Les plasmides

Les plasmides sont de petits éléments circulaires constituant du matériel génétique extra chromosomique (Figure A-3). Ils sont constitués d'ADN et portent le chromosome et des informations génétiques. Ils sont autonomes et capables de se répliquer indépendamment du chromosome. Ils sont impliqués dans la synthèse de différentes protéines enzymatiques conférant ainsi à la bactérie des caractères particuliers, tels que la possibilité d'utiliser tel ou tel substrat ou de résister à des antibiotiques.

2.6. Le matériel nucléaire (nucléoïde)

Les cellules procaryotes ne possèdent pas de noyau mais du matériel nucléaire sous forme d'un chromosome unique et circulaire. Ce chromosome est constitué d'un filament hélicoïdal d'acide désoxyribonucléique (ADN) bicaténaire. Chaque chaîne est composée d'une succession d'acide phosphorique et de desoxyriboses sur lesquels sont branchées des bases. Quatre bases entrent dans la composition de l'ADN : adénine (A), guanine (G), thymine (T) et cytosine (C). Les deux chaînes, liées entre elles par les bases, ont la même structure mais chaque base détermine obligatoirement la base opposée car l'adénine ne peut se lier qu'à la thymine (A-T) et la guanine qu'à la cytosine (G-C). La séquence de ces bases est spécifique de chaque ADN. L'ADN des bactéries est le support des informations transmises aux ribosomes qui effectuent les synthèses.

2.7. Les ribosomes

Constitués d'ARN et de protéines, les ribosomes bactériens comportent deux sous-unités (30 S et 50 S). Fonctionnellement, il y a deux sites essentiels pour la synthèse des protéines : le site aminoacyl qui accueille l'acyl-tARN et le site peptidyl qui accueille la

chaîne d'acides aminés en cours de constitution (Figure A-3). Ils sont particulièrement présents à proximité de la membrane cytoplasmique, site de synthèse de la paroi et des protéines exportées. Ils n'ont pas la structure des ribosomes de cellules eucaryotes expliquant la spécificité propre au monde bactérien. Des antibiotiques perturbent la synthèse des protéines à leur niveau comme c'est le cas par exemple des tétracyclines.

3. Structures diverses

Certains éléments ou comportements sont spécifiques à certaines bactéries : ils sont présentés ci-dessous.

3.1. La spore

Si on place certaines bactéries dans des conditions défavorables de survie, (bacilles Gram positif : *Bacillus* et *Clostridium*) il y a formation de spores : c'est la sporulation. Dans ces conditions les bactéries peuvent survivre plusieurs siècles.

Si on place ces spores dans des conditions favorables, les bactéries reviennent à l'état de bactéries végétatives : c'est la germination. Ensuite elles se développent comme toutes bactéries.

La spore contient, sous forme condensée, le génome et une partie du cytoplasme déshydraté autour d'une enveloppe très résistante. On peut observer au microscope les spores en voie de formation dans les corps bactériens. La situation de la spore est caractéristique de l'espèce. Les spores constituent une forme de résistance des bactéries et sont la cause de certaines contaminations d'origine tellurique (tétanos, maladie du charbon).

3.2. Les appendices

Les flagelles sont des structures rigides, ondulées qui naissent de la membrane cytoplasmique. Ils permettent la mobilité des bactéries et seules les espèces qui en sont pourvues sont mobiles.

4. Division bactérienne

La bactérie se multiplie par division binaire : la bactérie grandit puis se divise en deux cellules filles séparées par un septum formé par la paroi cellulaire. Durant la division, l'ADN

se duplique ainsi que les autres constituants. Divers systèmes enzymatiques de synthèse et de dégradation participent à la division cellulaire. La figure A-7 en est un exemple pour *E. coli*.

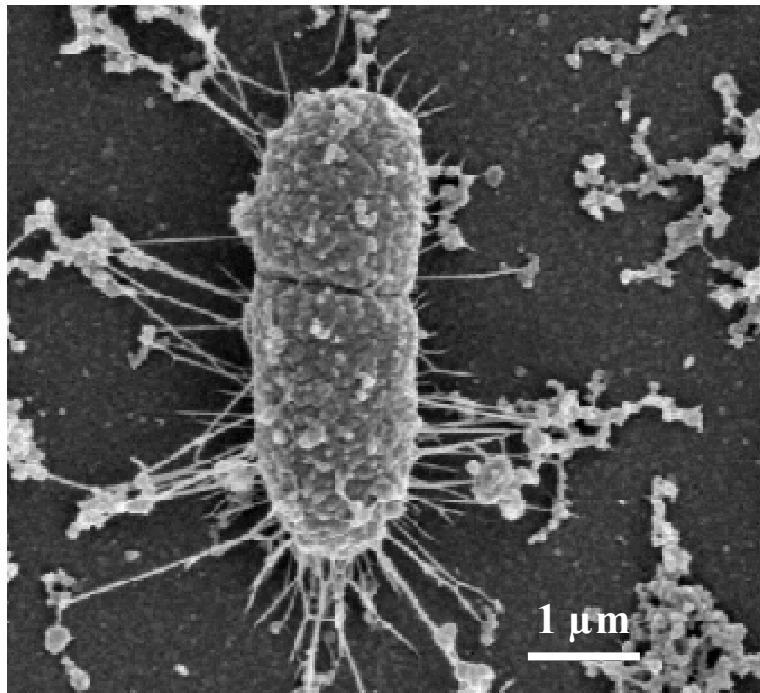


Figure A-7. Bactérie en cours de division : souche *d'E. coli* capable de coloniser la surface des matériaux grâce à la surproduction d'appendices d'adhérence [206].

5. Multiplication des bactéries

La croissance des bactéries s'étudie en milieu liquide. Il existe 5 phases dont l'ensemble constitue la courbe de croissance (Figure A-8).

- **Phase de latence (1) :** le taux de croissance est nul. La durée de cette phase dépend de la bactérie, de son âge et de la composition du milieu. C'est le temps nécessaire à la bactérie pour synthétiser les enzymes adaptés au nouveau substrat (pas de phase de latence si repiquage sur milieu identique au précédent).
- **Phase d'accélération ou de croissance exponentielle (2) :** il se produit une augmentation de la vitesse de croissance qui atteint un maximum. Cette phase dure tant que la vitesse de croissance est constante. Le temps de doublement des bactéries est le plus court. La masse cellulaire est représentée par des cellules viables (mortalité nulle).

- **Phase de ralentissement (3)** : la vitesse de croissance régresse. Il y a un épuisement du milieu de culture et une accumulation des déchets. Il existe un début d'autolyse des bactéries.
- **Phase maximale stationnaire (4)** : le taux de croissance devient nul. Les bactéries qui se multiplient compensent celles qui meurent.
- **Phase de déclin (5)** : le taux de croissance est négatif. Toutes les ressources nutritives sont épuisées. Il y a accumulation de métabolites toxiques. Il se produit une diminution d'organismes viables et une lyse cellulaire sous l'action des enzymes protéolytiques endogènes. Cependant, il persiste une croissance par libération de substances lors de la lyse (croissance cryptique).

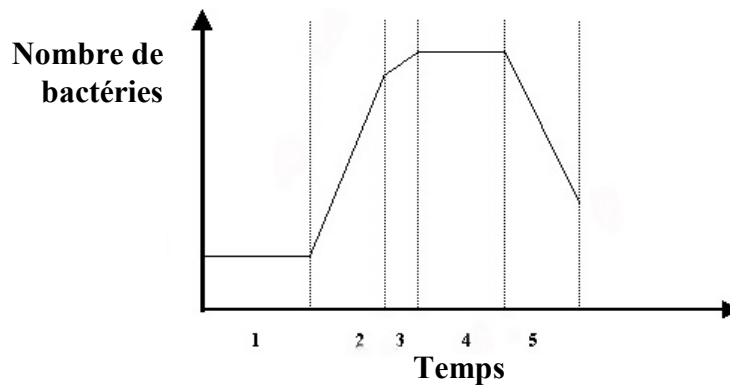


Figure A-8. Dynamique de croissance des bactéries.

Références bibliographiques

- [200] image 1. [Http://www.Actew.Com.Au/Water2water/MicrofiltrationandUltrafiltration.Aspx](http://www.Actew.Com.Au/Water2water/MicrofiltrationandUltrafiltration.Aspx) 2008.
- [201] Image 2. [Http://www.Answers.Com/Topic/Microorganism](http://www.Answers.Com/Topic/Microorganism).
- [202] Image 3. [Http://Fr.Wikipedia.Org/Wiki/Image:Average_Prokaryote_Cell-Fr.Svg](http://Fr.Wikipedia.Org/Wiki/Image:Average_Prokaryote_Cell-Fr.Svg) 2008.
- [203] Image 4. [Http://www.Answers.Com/Topic/Staphylococcus-Aureus](http://www.Answers.Com/Topic/Staphylococcus-Aureus) 2008.
- [204] Image 5. [Http://www.Nirgal.Net/Life_Nano.Html](http://www.Nirgal.Net/Life_Nano.Html) 2008.
- [205] Image 6. [Http://Stl_Bjb.Ac-Dijon.Fr/Microbio/Mparoibacterienne.Htm](http://Stl_Bjb.Ac-Dijon.Fr/Microbio/Mparoibacterienne.Htm) 2008.
- [206] Image 7. [Http://www2.Cnrs.Fr/Presse/Communique/661.Htm?Debut=624](http://www2.Cnrs.Fr/Presse/Communique/661.Htm?Debut=624).

GLOSSAIRE

Acronyme	Signification
DLI-MOCVD	Direct Liquid Injection Metal Organic Chemical Vapour Deposition
MEB	Microscope Electronique à Balayage
SARM	<i>S. aureus</i> méticillino résistants
QAS	Quaternary Amonium Salt
Cpm	counts per minute
UFC	Unité Formant Colonie
MET	microscopie électronique à transmission
MOCVD	Metalorganic chemical vapor deposition
MSVP	minimal salts vitamin pyruvate
APCVD	Atmospheric pressure chemical vapor deposition
FACVD	Flame assisted chemical vapor deposition
CIP	Centre Institut Pasteur
CIRIMAT	Centre Interuniversitaire de Recherche et d'Ingénierie des Matériaux,
SPR	Résonance plasmon de surface
UFC	Unités formants colonies
HR	Humidité relative

Résumé

La présence de bactéries et biofilms est une préoccupation permanente dans de nombreux domaines. Ils sont à l'origine de nombreux faits d'actualité qui ont un coût important pour le système de santé. L'objectif de notre travail visait à élaborer des films nanocomposite transparents contenant des particules métalliques nanométriques d'élément antibactérien (Ag ou Cu) immergées dans une matrice d'oxyde (TiO_2). La méthode de dépôt DLI-MOCVD (Direct Liquid Injection-Metal Organic Chemical Vapor Deposition) a été employée pour élaborer les films composites. Ce procédé permet le contrôle de la fraction molaire des précurseurs injectés dans le réacteur CVD et de revêtir des supports 3D (poreux). La croissance et la structure du dioxyde de titane (TiO_2) sont influencées par la présence du précurseur contenant l'élément antibactérien. La fraction molaire du précurseur (Ag ou Cu) modifie les caractéristiques physico chimiques et structurales des dépôts. L'activité antibactérienne est mesurée selon la norme JIS Z 2801:2000 avec *S. aureus* et *E. coli* en l'absence de lumière. Des essais antibactériens spécifiques ont été optimisés afin d'évaluer leur activité proche de condition réelle. La composition des dépôts influence fortement l'activité antibactérienne d'inactif à bactéricide. Des corrélations entre la microstructure et la composition des films et leurs propriétés antibactériennes sont discutées.

Abstract

The presence of bacteria and biofilms is permanent concern in many fields. Their presences are at the origin of many events which have high costs for the health system. In this objective, this work aimed to elaborate transparent nanocomposite thin films which are composed of nanometric metallic particles of antibacterial element (Ag or Cu) embedded in an oxide matrix (TiO_2). The DLI-MOCVD process (Direct Liquid Injection-Metal Organic Chemical Vapour Deposition) was used to elaborate these thin films. This process allows the quantity of precursors injected into the CVD reactor to be controlled and porous body to be coated. The growth mechanisms and the structure of the Titanium dioxide (TiO_2) are influenced by the presence of the organic precursor which contains the antibacterial element. The mole fraction of precursor (Ag or Cu) modifies the physico-chemical and structural properties of films. The antibacterial activity was tested according to the standard JIS Z 2801: 2000 with *S. aureus* and *E. coli* without light. Specific tests were optimised in order to evaluate their activity in environments more representative. The composition of coatings impacts strongly the antibacterial activities from inactive to bactericidal properties. Correlations between the microstructure and composition of films and their antibacterial properties are discussed.